

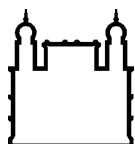
MINISTÉRIO DA SAÚDE
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Programa de Pós-Graduação em *Stricto sensu* Medicina Tropical

**ESTUDO SOCIOAMBIENTAL DO PARASITISMO INTESTINAL E DA RESPOSTA
IMUNE NA GIARDÍASE EM INDIVÍDUOS DE ÁREAS DE VULNERABILIDADE
SOCIAL E SANITÁRIA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO, BRASIL**

PHELIPE AUSTRIACO TEIXEIRA

Rio de Janeiro
Março de 2021



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Programa de Pós-Graduação *Stricto sensu* em Medicina Tropical

Phelipe Austriaco Teixeira

Estudo socioambiental do parasitismo intestinal e da resposta imune na giardíase em indivíduos de áreas de vulnerabilidade social e sanitária do estado do Rio de Janeiro, Brasil

Tese apresentada ao Instituto Oswaldo Cruz
como parte dos requisitos para obtenção do título
de doutor em Ciências

Orientadora: Dra. Alda Maria Da-Cruz

RIO DE JANEIRO

Março de 2021

Teixeira, Phelipe Austríaco.

Estudo socioambiental do parasitismo intestinal e da resposta imune na giardíase em indivíduos de áreas de vulnerabilidade social e sanitária do estado do Rio de Janeiro, Brasil / Phelipe Austríaco Teixeira. - Rio de Janeiro, 2021.

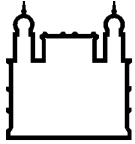
179 f.; il.

Tese (Doutorado) - Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Medicina Tropical, 2021.

Orientadora: Alda Maria Da-Cruz.

Bibliografia: f. 71-84

1. Parasitoses intestinais. 2. saneamento. 3. giardíase. 4. I-FABP. 5. ascaríase. I. Título.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Programa de Pós-Graduação *Stricto sensu* em Medicina Tropical

AUTOR: PHELIPE AUSTRIACO TEIXEIRA

ESTUDO SOCIOAMBIENTAL DO PARASITISMO INTESTINAL E DA RESPOSTA IMUNE NA GIARDÍASE EM INDIVÍDUOS DE ÁREAS DE VULNERABILIDADE SOCIAL E SANITÁRIA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO, BRASIL

ORIENTADORA: Dra. Alda Maria Da-Cruz

Aprovado em: 29/03/2021

EXAMINADORES:

Prof. Dr. Filipe Anibal Carvalho Costa (FIOCRUZ) - Presidente

Prof. Dr. Maria Regina Reis Amendoeira (FIOCRUZ)

Prof. Dr. Alexandre Ribeiro Bello (UERJ)

Prof. Dr. Eduardo José Lopes Torres (UERJ) - Suplente

Prof. Dr. Martha Cecilia Suárez Mutis (FIOCRUZ) - Suplente

Rio de Janeiro, 29 de março de 2021



Ministério da Saúde

Fundação Oswaldo Cruz
Instituto Oswaldo Cruz

Ata da defesa de tese de doutorado acadêmico em Medicina Tropical de **Phelipe Austriaco Teixeira**, sob orientação da Dra. Alda Maria da Cruz. Ao vigésimo nono dia do mês de março de dois mil vinte e um, realizou-se às treze horas e trinta minutos, de forma síncrona remota, o exame da tese de doutorado acadêmico intitulada: **"Estudo socioambiental do parasitismo intestinal e da resposta imune na giardíase em indivíduos de áreas de vulnerabilidade social e sanitária do estado do Rio de Janeiro, Brasil"**, no Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical do Instituto Oswaldo Cruz, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências - área de concentração: Diagnóstico, Epidemiologia e Controle, na linha de pesquisa: Epidemiologia e Controle de Doenças Infecciosas e Parasitárias. A banca examinadora foi constituída pelos Professores: Dr. Filipe Anibal Carvalho Costa – IOC/FIOCRUZ (Presidente), Dr. Alexandre Ribeiro Bello – UERJ/RJ, Dr. Maria Regina Reis Amendoeira – IOC/FIOCRUZ e como suplentes: Dr.ª. Martha Cecília Suárez Muts – IOC/FIOCRUZ e Dr. Eduardo José Lopes Torres – UERJ/RJ. Após arguir o candidato e considerando que o mesmo demonstrou capacidade no trato do tema escolhido e sistematização da apresentação dos dados, a banca examinadora pronunciou-se pela Aprovação da defesa da tese de doutorado acadêmico. De acordo com o regulamento do Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical do Instituto Oswaldo Cruz, a outorga do título de Doutor em Ciências está condicionada à emissão de documento comprobatório de conclusão do curso. Uma vez encerrado o exame, o Presidente da Banca atesta a decisão e a participação do aluno e de todos os membros da banca de forma síncrona remota. A Coordenadora do Programa Dr.ª. Vanessa Salete de Paula, assinou a presente ata tomando ciência da decisão dos membros da banca examinadora. Rio de Janeiro, 29 de março de 2021.

Dr. Filipe Anibal Carvalho Costa (Presidente da Banca):

Dr.ª. Vanessa Salete de Paula (Coordenadora do Programa):

Aos meus pais, Elza e José, e aos meus irmãos, Daniel, Grazielle e Gleyce.

AGRADECIMENTOS

Obrigado à Dra. Alda Maria Da-Cruz (melhor orientadora do mundo) por estar no lugar certo e na hora certa, me concedendo um espaço para adentrar essa roda de amigos maravilhosa que está construída sob sua liderança. Muito obrigado por não desistir de mim!

Agradeço imensamente à Dra. Maria Fantinatti pelo compartilhar de saberes e pela dedicação, paciência e investimento nesse trabalho. Sua amizade e parceria foram cruciais para permitir cada linha escrita nessa tese. Dos desafios à superação, nesse mundo que envolve o "cocô", tudo se tornou mais fácil e gratificante porque você estava lá.

Agradeço ao Dr. Filipe Aníbal por toda atenção e contribuição dispensada na revisão desse trabalho.

Obrigado Monique Pinto por ter sido persistente e ter "segurado na minha mão" quando eu já não acreditava mais em mim. O futuro dessa linha de pesquisa no LIPMed conta com a sua contribuição. E não há como deixar de parabenizar e aplaudir o cara mais estudioso que já conheci nessa vida: Luiz Antônio Pimentel. Você me aturou como ninguém e apesar dos nossos "desastres", posso dizer que sem a sua ajuda jamais realizaria esse sonho.

Obrigado Dr. Antônio Gonçalves por ter surgido no momento e lugar certo, contribuindo com sua sabedoria, cientificidade, generosidade e amizade verdadeira.

Obrigado Érika Veríssimo e Mary pela contribuição e apoio técnico, sendo de grande valia a presença de vocês nesse grupo que cresce mais a cada dia.

Obrigado a todos do LIPMed pelo apoio, diversão e, principalmente, pelo abraço acolhedor ao longo desses anos.

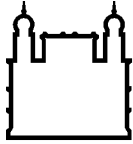
Muito obrigado aos profissionais, pais, jovens e crianças das instituições que colaboraram para realização desse estudo, sem vocês jamais teria conseguido.

Agradeço ao CNPq e aos membros da Pós-Graduação em Medicina Tropical por todo recurso disponibilizado.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

"Se um dia tiver que escolher entre o mundo e o amor lembre-se: se escolher o mundo ficará sem o amor, mas se escolher o amor com ele você conquistará o mundo."

Albert Einstein



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

ESTUDO SOCIOAMBIENTAL DO PARASITISMO INTESTINAL E DA RESPOSTA IMUNE NA GIARDÍASE EM INDIVÍDUOS DE ÁREAS DE VULNERABILIDADE SOCIAL E SANITÁRIA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO, BRASIL

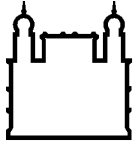
RESUMO

TESE DE DOUTORADO EM MEDICINA TROPICAL

Phelipe Austriaco Teixeira

Embora sejam associadas às áreas rurais, as enteroparasitoses também constituem um problema de saúde pública nos centros urbanos. Frequentemente, nestas áreas, indivíduos vivem em condições de vulnerabilidade social e a ausência do poder público leva a uma baixa perspectiva de implantação de saneamento, fazendo com que as condições socioambientais favoreçam a transmissão de enteroparasitos. Os objetivos desse trabalho foram: a) Caracterizar a prevalência, distribuição e perfil etiológico do parasitismo intestinal em indivíduos de áreas urbanas de vulnerabilidade social e sanitária do estado do Rio de Janeiro, Brasil; b) Identificar se há associações entre infecção por giárdia com dano intestinal, de citocinas sistêmicas e comprometimento do desenvolvimento físico. Foram realizados estudos transversais em duas localidades: a) Bairro Imbariê, no município de Duque de Caxias; b) Comunidade localizada no bairro da Tijuca, no município do Rio de Janeiro. A taxa de infecção por parasitos intestinais entre pré-escolares de uma creche na Comunidade localizada no bairro Tijuca foi de 41,4% (36/87). Em Imbariê a frequência de parasitoses intestinais foi 23,4% (108/462), e a infecção por *G. intestinalis* foi significativamente mais frequente em indivíduos que consumiam água de poço artesiano sem filtragem quando comparados aos indivíduos que consumiam água de poço filtrada [21/65 (32,3%) vs. 3/81 (3,7%)]; razão de prevalência [RP] = 8,7 (2,72-27,96; p <0,001). Geohelmintos foram detectados em 41 (8,9%) indivíduos. Observou-se que o uso de água de poço sem filtração foi associado a maiores taxas de positividade para *A. lumbricoides*. Nas duas localidades *G. intestinalis* e *A. lumbricoides* foram os parasitos mais frequentes. A análise qualitativa da percepção dos profissionais da creche, e dos moradores em Imbariê, constatou que as parasitoses intestinais são problemas recorrentes e habituais nas localidades, sendo desvelada, principalmente, nos casos de eliminação de vermes adultos de *A. lumbricoides* por crianças. Foram encontradas duas amostras positivas para *G. intestinalis* em cães errantes na comunidade da Tijuca e quatro em Imbariê. Duas amostras de água de Imbariê foram positivas para giardia pela técnica de PCR. Esses resultados mostram que tanto a transmissão hídrica quanto a zoonótica, aliadas à falta de conhecimento sobre os parasitos devem estar impactando nas altas taxas de prevalência de giárdia nessas localidades. A infecção por giárdia nos pré-escolares foi associada ao aumento dos níveis plasmáticos de proteína ligadora de ácidos graxos intestinais (I-FABP), redução dos níveis de IL-8 e tendência ao aumento de IL-17. Houve correlação positiva entre os níveis de I-FABP e IL-17, assim como o TNF, sugerindo que o dano epitelial pode estar relacionado à produção de citocinas durante a giardiase. Esses resultados mostram que a ruptura da barreira intestinal também ocorre por dano direto ao endotélio, e apontam para uma possível associação entre alteração de resposta imune e prejuízo do desenvolvimento físico. Os resultados salientam a necessidade do fortalecimento de políticas públicas e melhoramento das condições socio sanitárias no enfrentamento das infecções parasitárias para reduzir o impacto na saúde das "populações negligenciadas".

Palavras-chave: Parasitoses intestinais, saneamento, giardiase, ascaríase, I-FABP.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

SOCIO-ENVIRONMENTAL STUDY OF INTESTINAL PARASITISM AND THE IMMUNE RESPONSE IN GIARDIASIS IN INDIVIDUALS IN LOCATIONS OF SOCIAL AND HEALTH VULNERABILITY IN THE STATE OF RIO DE JANEIRO, BRAZIL

ABSTRACT

PHD THESIS IN MEDICINA TROPICAL

Phelipe Austriaco Teixeira

Although they are associated with rural areas, intestinal parasites are also a public health problem in urban centers. Often, in these areas, individuals live in conditions of social vulnerability and the absence of public authorities leads to a low perspective of implementing sanitation, causing the socio-environmental conditions to conducive to the transmission of intestinal parasites. The objectives of this work were: a) To characterize the prevalence, distribution and etiological profile of intestinal parasitism in individuals in an urban area of social and health vulnerability in the state of Rio de Janeiro, Brazil; b) Identify if there are associations between infection by giardia with intestinal damage, systemic cytokines and impaired physical development. Cross-sectional studies were carried out in two locations: a) Imbariê, in the municipality of Duque de Caxias; b) Community located in the Tijuca neighborhood, in the municipality of Rio de Janeiro. The rate of infection by intestinal parasites among preschoolers in a daycare center in the Community located in the Tijuca neighborhood, was 41.4% (36/87). In Imbariê the frequency of intestinal parasitosis was 23.4% (108/462), and infection by *G. intestinalis* was more frequent in people who consumed water from an artesian well without filtration [21/65 (32.3%) vs. 3/81 (3.7%)]; prevalence ratio [PR] = 8.7 (2.72-27.96; $p < 0.001$). Geohelminths were detected in 41 (8.9%) individuals. It was observed that the use of well water without filtration was associated with the highest rates of positivity for *A. lumbricoides*. In the two localities *G. intestinalis* and *A. lumbricoides* were the most frequent parasites. A qualitative analysis of the perception of daycare professionals, and of the residents in Imbariê, found that intestinal parasites are recurrent and common problems in the localities, being revealed, mainly, in the cases of elimination of adult worms of *A. lumbricoides* by children. Two positive evaluations were found for *G. intestinalis* in stray dogs in the Tijuca community and four in Imbariê. Two hydro plants of Imbariê water were positive for giardia by the PCR technique. These results show that both water and zoonotic transmission, combined with the lack of knowledge about the parasites, should be impacting the high rates of giardia prevalence in these locations. Infection with giardia in preschoolers was associated with increased plasma levels of intestinal fatty acid-binding protein (I-FABP), reduced levels of IL-8 and a tendency to increase IL-17. There was a positive correlation between the levels of I-FABP and IL-17, as well as TNF, suggesting that epithelial damage may be related to the production of cytokines during a giardiasis. These results show that the rupture of the intestinal barrier also occurs due to direct damage to the endothelium, and point to a possible association between altered immune responses and impaired physical development. The results highlight the need to strengthen public policies and improve socio-sanitary conditions in the fight against parasites to reduce the impact on the health of "neglected populations".

Keywords: Intestinal parasites, sanitation, giardiasis, ascariasis, I-FABP.

ÍNDICE

RESUMO	VIII
ABSTRACT	IX
APRESENTAÇÃO	
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Parasitoses intestinais: um problema de saúde pública de “pessoas negligenciadas”.....	2
1.2. Giardíase.....	4
1.3. Aspectos imunológicos na giardíase.....	8
1.4. Ascariase.....	10
1.5. Prevenção e controle das enteroparasitoses.....	15
1.6. Parasitoses intestinais e saneamento básico no Brasil.....	18
1.7. Justificativa.....	20
2. OBJETIVOS	21
2.1. Ojetivos gerais.....	21
2.2. Objetivos específicos.....	21
3. METODOLOGIA	22
3. 1. Estudo socioambiental da infecção por enteroparasitos em áreas de vulnerabilidade social e sanitária do estado do Rio de Janeiro, Brasil.....	22
3.1. 1. Locais de estudo.....	22
3. 1. 1. 1. Comunidade do Salgueiro.....	22
3. 1. 1. 2. Bairro de Imbariê.....	24
3. 1. 2. Amostragem e coleta de informações socioeconômicas.....	25
3.1. 2. 1. Salgueiro.....	25
3.1. 2. 2. Imbariê.....	26
3. 1. 3. Detecção de infecção por parasitos intestinais.....	26
3. 1. 4. Análise estatística.....	27
3. 1. 5. Avaliação da contaminação ambiental em amostras de animais errantes e de água para consumo.....	28
3.1. 6. Diagnóstico e caracterização molecular de <i>Giardia intestinalis</i>	29
3.1. 7. Diagnóstico e caracterização molecular de <i>Cryptosporium spp</i>	30
3. 1. 8. Relato sobre parasitoses intestinais no cotidiano.....	33
3. 2. A giardíase altera os níveis de proteína ligante de ácidos graxos	

intestinais (I-FABP) e de citocinas plasmáticas em crianças no Brasil.....	33
3. 2. 1. Amostragem e diagnóstico de giardíase.....	33
3. 2. 2. Avaliações antropométricas.....	34
3. 2. 3. Coleta de amostras de sangue.....	34
3. 2. 4. Quantificação da proteína de ligação aos ácidos graxos intestinais (I-FABP) e citocinas no plasma.....	35
3. 2. 5. Análise estatística dos dados.....	35
3.3. Aspectos Éticos.....	36
4. RESULTADOS	37
4.1. Estudo socioambiental da infecção por enteroparasitos em áreas de vulnerabilidade social e sanitária do estado do Rio de Janeiro, Brasil.....	37
4.1. 1. Salgueiro.....	37
4.1. 1. 1. Frequência de detecção dos parasitos intestinais.....	37
4. 1. 1. 2. Percepção dos profissionais da creche sobre a problemática das parasitoses intestinais entre os pré-escolares.....	38
4.1. 1. 3. Diagnóstico molecular de <i>Giardia intestinalis</i>	42
4. 1. 2. Imbariê.....	43
4. 1. 2. 1. Frequência de detecção dos parasitos intestinais e diagnóstico molecular de <i>Giardia intestinalis</i> nas amostras humanas.....	43
4. 1. 2. 2. Detecção de parasitos intestinais e diagnóstico molecular de <i>Giardia intestinalis</i> nas amostras ambientais.....	47
4. 1. 2. 3. Diagnóstico molecular de <i>Cryptosporium</i> spp.....	48
4.1. 2. 4. Percepção dos moradores sobre a problemática das parasitoses intestinais na comunidade.....	48
4.2. A giardíase altera os níveis de proteína ligante de ácidos graxos intestinais (I-FABP) e de citocinas plasmáticas em crianças no Brasil.....	49
4. 2. 1. Perfil clínico e hematológico das crianças com giardíase.....	49
4. 2. 2. Perfis de citocinas plasmáticas de pré-escolares infectados por <i>Giardia intestinalis</i>	51
4. 2. 3. Níveis de proteína de ligação aos ácidos graxos intestinais (I-FABP) em crianças infectadas com <i>Giardia intestinalis</i>	53
5. DISCUSSÃO	55
5. 1. Estudo socioambiental da infecção por enteroparasitos em áreas de	

vulnerabilidade social e sanitária do estado do Rio de Janeiro, Brasil.....	55
5.1. 1. Salgueiro.....	55
5.1. 1. 1. Frequência de detecção dos parasitos intestinais.....	55
5.1. 1. 2. Percepção dos profissionais da creche sobre a problemática das parasitoses intestinais entre os pré-escolares.....	56
5. 1. 2. Imbariê.....	60
5. 1. 2. 1.Frequência de detecção dos parasitos intestinais e diagnóstico molecular de <i>Giardia intestinalis</i> nas amostras humanas.....	60
5. 1. 2. 2. Detecção de parasitos intestinais e diagnóstico molecular de <i>Giardia intestinalis</i> nas amostras ambientais.....	64
5. 1. 2. 3. Diagnóstico molecular de <i>Cryptosporium spp</i>	65
5. 1. 2. 4. Percepção dos moradores sobre a problemática das parasitoses intestinais na comunidade.....	65
5.2. A giardíase altera os níveis de proteína ligante de ácidos graxos intestinais (I-FABP) e de citocinas plasmáticas em crianças no Brasil.....	66
6. CONCLUSÕES	69
7. PERSPECTIVAS	70
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71
9. APÊNDICES.....	85
Apêndice 1 : Questionário socioeconômico.....	85
Apêndice 2: Artigo1. <i>Giardia duodenalis</i> Genotyping from Dogs and Cats in Brazil: A Reality Still Unknown"	87
Apêndice 3: Artigo 2. Giardiasis Alters Intestinal Fatty Acid Binding Protein (I-FABP) and Plasma Cytokines Levels in Children in Brazil.....	90
Apêndice 4: Artigo 3. Parasitoses intestinais e saneamento básico no Brasil: estudo de revisão integrativa.....	99
Apêndice 5: Artigo 4. Recirculation of <i>Giardia lamblia</i> Assemblage A After Metronidazole Treatment in an Area With Assemblages A, B, and E Sympatric Circulation.....	123
Apêndice 6: Artigo 5. Water management and intestinal parasitism in a periurban community in Rio de Janeiro state, Brazil (Submetido).....	132
Apêndice 7: Tabela suplementar.....	144
10. ANEXOS.....	145
Anexo 1. Autorização da prefeitura de Duque de Caxias para realização do estudo em Imbariê.....	145

Anexo 2. Parecer consubstanciado do CEP-Salgueiro.....	146
Anexo 3. Parecer consubstanciado do CEP- Imbariê.....	152

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1	Ciclo de vida de <i>Giardia intestinalis</i>	5
Figura 1.2	Mapa ilustrativo da distribuição dos genótipos de <i>Giardia intestinalis</i> identificados em cães no Brasil	8
Figura 1.3	As múltiplas funções das células epiteliais intestinais durante as infecções por <i>Giardia intestinalis</i>	9
Figura 1.4	Ciclo de vida de <i>Ascaris lumbricoides</i>	11
Figura 1.5	Distribuição da ascaríase segundo o INPEG 2010/2015	12
Figura 1.6	Óbitos por ascaridíase notificados no Sistema de Informações sobre Mortalidade, no Brasil, no período de 1996-2016	13
Figura 3.1	Localização da Creche Municipal Raízes do Salgueiro, no bairro da Tijuca, no município do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil, 2018	23
Figura 3.2	Localização da área de estudo no município de Duque de Caxias, Rio de Janeiro, Brasil, 2018	25
Figura 4.1	Frequência de parasitos intestinais em 84 pré escolares de uma creche municipal, Comunidade do Salgueiro, Rio de Janeiro, Brasil (2018/2019)	38
Figura 4.2	Fralda contendo exemplares de vermes adultos de <i>Ascaris lumbricoides</i> eliminados por uma pré escolar de uma creche municipal, Comunidade do Salgueiro, Rio de Janeiro, Brasil	40
Figura 4.3	Condições ambientais impróprias identificadas na Comunidade do Salgueiro, Rio de Janeiro, Brasil, 2018	41
Figura 4.4	Comparação entre os resultados de detecção de <i>Giardia intestinalis</i> por identificação dos genes Beta-giardina (β -gia) e glutamato desidrogenase (gdh); e detecção de cistos pelo exame parasitológico de fezes, Comunidade do Salgueiro, Rio de Janeiro, Brasil (2018-2019)	42
Figura 4.5	Comparação entre os resultados da análise por biologia molecular e exame parasitológico de fezes no diagnóstico de giardíase, Imbariê, Rio de Janeiro, Brasil (2018-2019)	46
Figura 4.6	Frequência de parasitos intestinais em 34 cães errantes de Imbariê, Duque de Caxias, Rio de Janeiro, Brasil (2018/2019)	47

- Figura 4.7 Perfis de citocinas de crianças infectadas com Giardia intestinalis no Salgueiro (2015) 52**
- Figura 4.8 Níveis de proteína ligante de ácidos graxos intestinais (I-FABP) e correlação com perfis e de citocinas sistêmicas e genótipos de Giardia em crianças infectadas no Salgueiro, 2015 53**

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1. Sequências de oligonucleotídeos dos iniciadores e condições para a reação em cadeia da polimerase empregada na amplificação do DNA extraídos das amostras clínicas e dos controles

Tabela 3.2. Sequências de oligonucleotídeos dos iniciadores e condições para a reação em cadeia da polimerase empregada na amplificação do DNA extraídos das amostras clínicas e dos controles

Tabela 4.1. Frequência de detecção de parasitos intestinais, por sexo e idade, em indivíduos de uma creche em uma comunidade do Rio de Janeiro, Brasil (2018-2019)

Tabela 4.2. Frequência de detecção de parasitos intestinais em 20 indivíduos contactantes das crianças frequentadoras da creche do Salgueiro, no município do Rio de Janeiro, Brasil (2018-2019)

Tabela 4.3. Frequência de detecção de protozoários intestinais e fatores associados em indivíduos atendidos em uma Unidade Básica de Saúde, no município de Duque de Caxias, Rio de Janeiro, Brasil (2018-2019)

Tabela 4.4. Frequência de detecção de helmintos intestinais e fatores associados em indivíduos atendidos em uma Unidade Básica de Saúde, no município de Duque de Caxias, Rio de Janeiro, Brasil (2018-2019)

Tabela 4.5. Dados demográficos e exames hematológicos de pré-escolares infectados e não infectados por *G. intestinalis*, Salgueiro, 2015

Tabela 4.6. Análise de regressão linear multivariada para avaliar a associação entre os níveis de proteína de ligação aos ácidos graxos intestinais (I-FABP) e variáveis independentes (citocinas) em pré-escolares positivos para *Giardia*

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ACS	Agente Comunitário de Saúde
CDC	Centro de Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos
<i>cox1</i>	Subunidade 1 da citocromo c oxidase
DNA	Ácido desoxirribonucleico
dNTP's	Desoxirribonucleotídeos Fosfatados
DTNs	Doenças tropicais negligenciadas
ECS	Estratégia de Saúde da Família
ELISA	Ensaio de imunoabsorção enzimática
EPF	Exame parasitológico de fezes
EUA	Estados Unidos da América
<i>Gdh</i>	Glutamato desidrogenase (gene)
GDH	Glutamato desidrogenase (proteína)
GEMS	Global Enteric Multicenter Study
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatísticas
IEC	Células epiteliais intestinais
I-FABP	Proteína de ligação aos ácidos graxos intestinais
IFN-γ	Interferon-gama
IgA	Imunoglobulina A
IL	Interleucina
INPEG	Inquérito Nacional de Prevalência da Esquistossomose mansoni e Geohelmintoses
<i>ITS1</i>	Espaçador intergênico 1
MCP-1	Proteína quimiotática de monócitos-1
-MgCl₂	Cloreto de Magnésio
MIP-1β	Proteína inflamatória de macrófago-1
<i>nad1</i>	NADH dehydrogenase subunit 1
OMS	Organização Mundial de Saúde
OPAS	Organização Panamericana da Saúde
PCR	Reação em cadeia da polimerase
pg/mL	Picograma por mililitro
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
rRNA	Ácido ribonucléico ribossômico
SIM	Sistema de Informações sobre Mortalidade

SUS	Sistema Único de Saúde
TNF	Fator de necrose tumoral
<i>β-gia</i>	β-giardina (gene)

APRESENTAÇÃO

Esta tese teve seus resultados organizados em dois estudos elaborados de maneira independentes, mas complementares, sobre parasitoses intestinais, com destaque para giardíase.

O primeiro estudo tem o título de “*Estudo socioambiental da infecção por enteroparasitos em áreas de vulnerabilidade social e sanitária do estado do Rio de Janeiro, Brasil*” e tem como objetivo a caracterização da prevalência, distribuição e perfil etiológico do parasitismo intestinal em indivíduos de duas localidades com deficiências socio sanitárias no estado do Rio de Janeiro. Dados parciais dessa parte da pesquisa foram submetidos à revista científica *Journal of Tropical Medicine* sob o título "Water management and intestinal parasitism in a periurban community in Rio de Janeiro state, Brazil".

O segundo estudo foi intitulado “*A giardíase altera os níveis de proteína ligante de ácidos graxos intestinais (I-FABP) e de citocinas plasmáticas em crianças no Brasil*” e objetiva a identificação da relação entre os danos aos enterócitos e as alterações nas respostas imunológicas em crianças infectadas com *Giardia intestinalis* que vivem em uma favela urbana do Rio de Janeiro, sendo os resultados publicados na revista científica *Pathogens* sob o título "Giardiasis Alters Intestinal Fatty Acid Binding Protein (I-FABP) and Plasma Cytokines Levels in Children in Brazil".

1. INTRODUÇÃO

As parasitoses intestinais possuem elevada prevalência, principalmente em países em desenvolvimento e com baixa cobertura de saneamento. A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda ações multidisciplinares e intersetoriais para diminuição da prevalência de enteroparasitoses. Essas ações incluem educação em saúde, diagnóstico e tratamento, que necessitam estar alinhados à melhoria das condições ambientais. Entretanto, a distribuição adequada do saneamento básico nos países em desenvolvimento perpassa entraves políticos e governamentais para atender toda a população (OMS, 2012).

No mundo, estima-se que a infecção por parasitoses intestinais atinge 3,5 bilhões de indivíduos, desencadeando complicações em aproximadamente 450 milhões. *Ascaris lumbricoides* possui uma estimativa de infecção global em torno dos 819 milhões (Pullan et al. 2014). Entre os protozoários, calculam-se cerca de 280 milhões de casos registrados por ano de infecção por *Giardia intestinalis* e uma prevalência superior a 50% em países em desenvolvimento (Lane, 2002, OMS, 2005, CDC, 2021).

Nesse contexto, as parasitoses intestinais não devem ser negligenciadas, apesar da diminuição das frequências de infecções que pode estar associada a melhorias na qualidade de vida decorrente do processo de urbanização. Entretanto, existem consequências conhecidas e desconhecidas provocadas por essas doenças, que afetam principalmente os países em desenvolvimento, uma vez que estes permanecem vivendo com esse problema não invisível, mas que se tornou por vezes subestimado, em especial nas esferas sociais mais vulneráveis (Alves et al. 2017).

Dessa forma, o elo que envolve a dinâmica: pessoa, tempo e lugar, no contexto das parasitoses intestinais, torna-se relevante de ser compreendido, a fim de subsidiar a criação e implementação de políticas públicas efetivas, especialmente em locais onde opera a vulnerabilidade social e sanitária, ou seja, onde vivem as pessoas negligenciadas.

1.1. Parasitoses intestinais: um problema de saúde pública de "pessoas negligenciadas"

As doenças tropicais negligenciadas (DTNs) são definidas pela OMS como um grupo de doenças transmissíveis comuns em 149 países, acometendo mais de um bilhão de pessoas e que custam bilhões de dólares aos países em desenvolvimento anualmente. As características comuns dessas doenças são: um correlato da pobreza e da desvantagem; afetam populações que têm baixa visibilidade e pouca voz política; não se disseminam amplamente; provocam estigma e discriminação, principalmente de meninas e mulheres; têm impacto importante sobre morbidade e mortalidade; são relativamente negligenciadas pelas pesquisas; podem ser controladas, evitadas e possivelmente eliminadas pelo emprego de soluções eficazes e factíveis. Além disso são negligenciadas em investimentos e em medidas de controle como vacinas e medicamentos. Essas doenças afetam principalmente as populações com maior risco de vulnerabilidade social e sanitária, ou aquelas com maior contato com animais domésticos ou gado (OMS, 2010).

Nesse contexto, pode-se entender as doenças negligenciadas como doenças de "pessoas negligenciadas": 'pessoas devastadas pela pobreza', com saneamento deficitário e com pouca ou nenhuma perspectiva de mudança sobre suas condições de vida.

Assim, corrobora o entendimento de Oliveira (2018, p. 2300) ao concluir sobre a necessidade de se olhar para o indivíduo além da doença, mas em seu próprio contexto de realidade:

Portanto, atentar para colagens discursivas entre termos como 'negligência' e 'doenças tropicais', fornece meios para pensar criticamente sobre iniciativas globais e suas traduções em políticas nacionais e suas repercussões em vidas humanas. A noção de negligência tem que ser assumida, não apenas em termos de doenças, mas também de pessoas e seus corpos. **São doenças negligenciadas, pois que de pessoas negligenciadas.** Reconhecer a verdadeira dimensão da negligência deve

pressupor questionar criticamente racionalidades que informam modos de operar políticas que, a despeito de indiscutíveis avanços em termos de saúde pública, mantêm regras e contornos nos marcos da subalternidade e da dependência.

Adentrando especificamente o mundo das parasitoses, a OMS não contemplou as doenças protozooses entéricas como negligenciadas, como a giardíase e a amebíase, se restringindo as helmintíases transmitidas pelo solo: ancilostomíase, ascaridíase e tricuriase. A estratégia recomendada e difundida pela OMS no controle dessas geo-helmintíases foi pensada no uso da "medicação preventiva", cujo racional baseia-se na administração de anti-helmínticos em dose única e em massa, atendendo a grupos prioritários (OMS, 2010).

Savioli, Smith e Thompson em 2006 já afirmavam a necessidade da inclusão de protozoários entéricos, como *Giardia spp* e *Cryptosporidium spp*, no rol das doenças negligenciadas com objetivo de aumento e compartilhamento de informações que levassem à maior eficácia das estratégias de controle. Os respectivos autores mencionam que a infecção causada por esses protozoários foram incluídas em setembro de 2004 na 'Iniciativa de Doenças Negligenciadas', em uma perspectiva de que os métodos moleculares produzissem informações sobre biologia, epidemiologia e interações entre esses agentes infecciosos (Savioli, Smith e Thompson, 2006).

Para o enfrentamento do problema das enteroparasitoses no Brasil, o Ministério da Saúde brasileiro publicou em 2005 o Plano Nacional de Vigilância e Controle das Enteroparasitoses, tendo como objetivo principal a redução da prevalência, morbidade e mortalidade por enteroparasitoses no país. Entretanto, este plano não contemplou os protozoários intestinais, como *G. intestinalis* e *Entamoeba histolytica*, nem mencionou outros grupos de protozoários, como os cocídeos.

Apesar das infecções pelos protozoários entéricos constituírem causas significativas de diarreia e distúrbios nutricionais em contextos comunitários de subdesenvolvimento, o Brasil, encampado pelas recomendações internacionais, desde o ano 2013 vem realizando o "tratamento profilático" a fim de reduzir a carga parasitária das geo-helminthíases. A estratégia vem sendo adotada para a população de 5 a 14 anos de idade, durante as Campanhas Nacionais Integradas que incluem as verminoses (Brasil, 2018b). Ações que corroboram o negligenciamento no enfrentamento das infecções pelos protozoários supracitados.

Destaca-se que o Brasil é um país de imensos contrastes e desigualdades sociais, com polos de riqueza e pobreza extrema. Diversas estratégias vêm sendo implementadas ao longo dos anos com o objetivo de mitigar a desigualdade, pelo menos nas classes econômicas mais baixas. Como por exemplo os programas de proteção social e transferência de renda iniciados na década de 90, a implementação do Programa Bolsa Família (2003) e Plano Brasil sem Miséria (2011), além da reestruturação da atenção básica com a Estratégia de Saúde da Família (2006). Entretanto, esses planos sociais necessitam estar alinhados às melhorias das condições ambientais e investimentos no saneamento, a fim de diminuir a carga parasitária no ambiente e mitigar as possíveis rotas de transmissão. Nesse contexto, a eliminação/redução das parasitoses intestinais pode ser pensada como uma esperança, onde há muito a se desbravar nas estratégias governamentais e abordagens intersetoriais, multi e transdisciplinares diante das pessoas negligenciadas.

1.2. Giardíase

A giardíase, doença causada pelo protozoário entérico *Giardia* spp que parasita humanos e diversos outros vertebrados, possui ampla distribuição mundial e afeta principalmente populações que residem em áreas com deficiências sanitárias. Esta doença está entre as principais causas de diarreia aguda, especialmente no público infantil ou com comprometimento do estado imunológico, sendo referida

como causa de deficiência no crescimento infantil (Thompson e Ash 2019, Certad et al. 2017, Rogawski et al. 2018, Fantinatti et al. manuscrito em preparação).

Esse parasito apresenta duas formas: cistos e trofozoítos. A infecção é zoonótica e ocorre a partir da ingestão de cistos em água ou alimentos contaminados, assim como pela via fecal-oral direta por meio de mãos ou objetos contaminados. No intestino delgado, após o desencistamento, há liberação de dois trofozoítos a partir de cada cisto. Os trofozoítos se multiplicam assexuadamente e permanecem no intestino delgado. Ocorrerá encistamento quando os parasitos se deslocarem ao cólon, sendo eliminados nas fezes, já capazes de infectar novos hospedeiros (CDC, 2021).

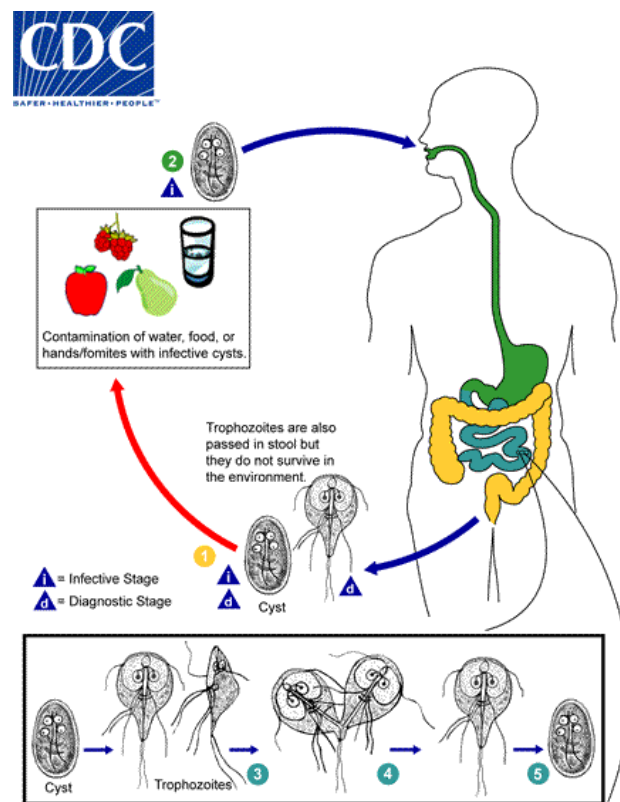


Figura 1.1: Ciclo de vida de *Giardia intestinalis*

1 Cistos; 2 Ingestão de cistos em água e alimentos contaminados; 3 No intestino delgado, a excistação libera trofozoítos; 4 cada cisto produz dois trofozoítos; 5 encistação

Segundo Certad et al. (2017), os resultados do *Global Enteric Multicenter Study* (GEMS) demonstram que a giardíase causa diarreia aguda principalmente em crianças menores de cinco anos. Além disso, *G. intestinalis* é o protozoário responsável por 35,1% dos surtos de diarreia ocasionados por água contaminada, fato que sugere que a disseminação deste parasito esteja intimamente relacionada à transmissão hídrica (Baldursson e Karanis 2011). Por tratar-se de uma zoonose, o contato com animais também é considerado um fator de risco para a infecção por *G. intestinalis*.

No Brasil, os estudos da prevalência de *G. intestinalis* são realizados de maneira pontual e, principalmente com o público infantil. O parasitismo é frequentemente relatado, com prevalências variando de 4,9% a 96,6% (Matta-Santos et al. 2013, Lima Junior, Kaiser e Catisti, 2013, Fantinatti et al. 2020). Apesar do problema de saúde pública que apresenta, a giardíase permanece como uma doença negligenciada no país, não figurando na lista de doenças de notificação obrigatória, por exemplo (Coelho et al. 2017).

Os estudos de caracterização molecular de *G. intestinalis*, espécie que infecta humanos e outros mamíferos, permitiram ampliar o entendimento do comportamento desse agente e suas possíveis rotas de transmissão. Existem diferentes alvos gênicos utilizados para diferenciação dos genótipos ou até mesmo de espécie desse parasito, como os genes que codificam as proteínas glutamato *desidrogenase* (*gdh*) e *beta-giardina* (β -*giardina*) (Lujan e Svärd 2011). Entretanto, há possibilidade de não amplificação ou até mesmo discordância na caracterização dos genótipos de acordo com o alvo gênico escolhido (Ryan e Cacciò 2013).

A espécie *G. intestinalis* apresenta-se dividida em genótipos classificados de A a H, de acordo com a especificidade pelo hospedeiro e características moleculares (Monis et al. 1999, Thompson et al. 2000, Lasek-Nesselquist et al. 2010, Feng e Xiao, 2011).

Os genótipos A e B infectam humanos e outros hospedeiros mamíferos e são considerados potencialmente zoonóticos. Embora os genótipos C, D, E, F, G e H

sejam considerados hospedeiro-específicos, muitas dúvidas pairam sobre a classificação, em virtude da carência de estudos de caracterização molecular. Embora esta divisão seja a estabelecida até os dias de hoje, a caracterização genotípica de *G. intestinalis* ainda não se encontra totalmente consubstanciada. Estudos recentes vêm demonstrando a infecção de alguns genótipos em hospedeiros não identificados previamente. O genótipo E, por exemplo, recentemente foi descrito em coelhos e (Qi et al 2015), e o genótipo F, no entanto, foi descrito em bovinos (Cardona et al. 2015). Nosso grupo identificou de forma inequívoca a presença do genótipo E em crianças de uma creche no Rio de Janeiro (Fantinatti et al. 2016) e apontou para a possibilidade de um novo ciclo zoonótico envolvendo animais biungulados, como cavalos, bois, porcos, entre outros. Este mesmo genótipo também foi identificado na Austrália (Zahedi et al 2017).

A giardíase está presente em todas as cinco regiões brasileiras: Sudeste, Sul, Nordeste, Norte e Centro-Oeste com achados de maior prevalência na região Sudeste (Coelho et al. 2017, Fantinatti et al 2020). Embora o Rio de Janeiro esteja entre os estados mais populosos, faltam estudos avaliando a prevalência de giardíase, revelando uma lacuna epidemiológica e científica.

No contexto antropozoonótico, os estudos de genotipagem de *Giardia* em animais com perfil doméstico no Brasil são escassos, portanto, esse perfil de transmissão ainda é uma realidade desconhecida. Ao realizar revisão em 2019, Austriaco-Teixeira, Oliveira e Fantinatti (2019) encontraram apenas nove trabalhos sobre o estudo de genotipagem em cães e gatos, em sua maioria realizados na região Sudeste brasileira. A figura 1 mostra a distribuição dos genótipos relatados em cães conforme o local de estudo.



Figura 1.2: Mapa ilustrativo da distribuição dos genótipos de *Giardia intestinalis* identificados em cães no Brasil. **A:** Genotipagem usando o alvo *gdh*; **B:** Genotipagem usando o alvo β -*gia*; **C:** Genotipagem usando o alvo *tpi*. Os balões são identificados por cor de acordo com o genótipo identificado. Laranja: A; Amarelo: B; Azul: C; Verde: D; Violeta; E.

Fonte: Austriaco-Teixeira, Oliveira e Fantinatti, 2019.

Dessa forma, a distribuição da giardíase está condicionada às múltiplas fontes de infecção, interligadas pela contaminação ambiental com fezes, possivelmente de origem humana e de outro animal, o que remonta a necessidade de saneamento, acesso ao diagnóstico e tratamento adequado de infecções (Coronato-Nunes, 2016).

1.3. Aspectos imunológicos na giardíase

A imunidade contra parasitos é estabelecida gradualmente ao longo do tempo por meio das exposições aos seus determinantes antigênicos, ocorrendo complicações especialmente em crianças, pois possuem sistema imunológico imaturo (Littman et al. 2010).

Na giardíase, os trofozoítos de *G. intestinalis* colonizam a superfície luminal do intestino delgado e se fixam às células epiteliais intestinais (IEC). Acredita-se que a doença ocorra devido ao dano à barreira epitelial, mediado tanto pelo parasito quanto pela resposta imune. O rompimento das junções comunicantes estreitas, o

encurtamento das microvilosidades, a permeabilidade epitelial e a alteração da motilidade intestinal têm sido observados (Fink e Singer, 2017).

Na colonização de *G. intestinalis* do intestino delgado, a permeabilidade aumenta e pode resultar em translocação microbiana. As células imunes inatas tornam-se ativadas e iniciam as respostas adaptativas. Não são claros quais mecanismos estão envolvidos na ativação das respostas e, além de IL-6, as citocinas que impulsionam o desenvolvimento da resposta adaptativa são desconhecidas. As respostas adaptativas incluem a produção de IgA, IL-17 e ativação de células TCD8⁺, que contribuem para proteção. Em resposta à IL-17, as IECs transportam IgA para o lúmen, impactando na proteção contra *G. intestinalis* e na microbiota. A ativação de células TCD8⁺ induzem manifestações patológicas, como encurtamento de microvilosidades e redução da atividade de dissacaridase, enzima responsável por romper os dissacarídeos nos monossacarídeos, como parte do processo da digestão (Fink e Singer, 2017) (Figura 1.3).

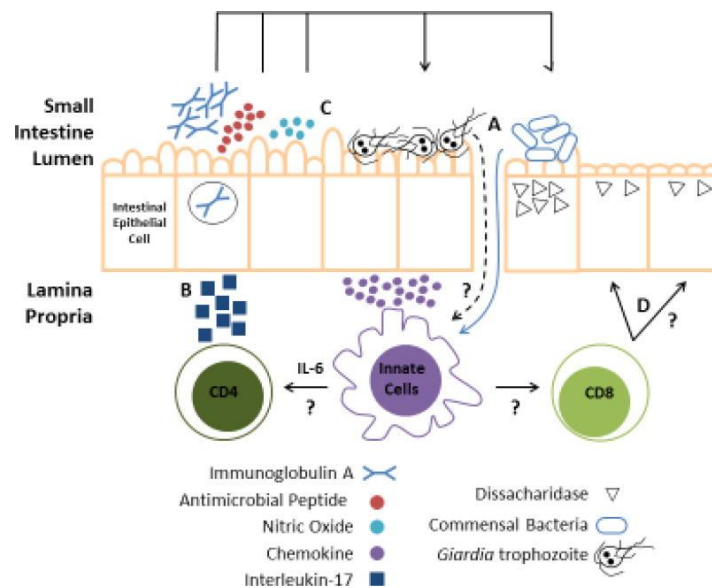


Figura 1.3: As múltiplas funções das células epiteliais intestinais durante as infecções por *Giardia intestinalis*
 Fonte: Fink e Singer, 2017, pp.20.

Vários estudos analisaram citocinas na giardíase murina e um consenso se formou sobre a importância da IL-17 para a imunidade protetora (Singer 2015). Em pacientes adultos que se recuperaram da giardíase, a IL-17 foi regulada positivamente quando as células T CD4⁺ de memória efetoras foram reestimuladas *in vitro* com antígenos de *Giardia* (Saghaug et al. 2015). No entanto, os papéis de outras citocinas na patogênese da giardíase não são claros, e poucos estudos abordaram essa questão em humanos (Babaei et al. 2016, Pacheco et al 2019).

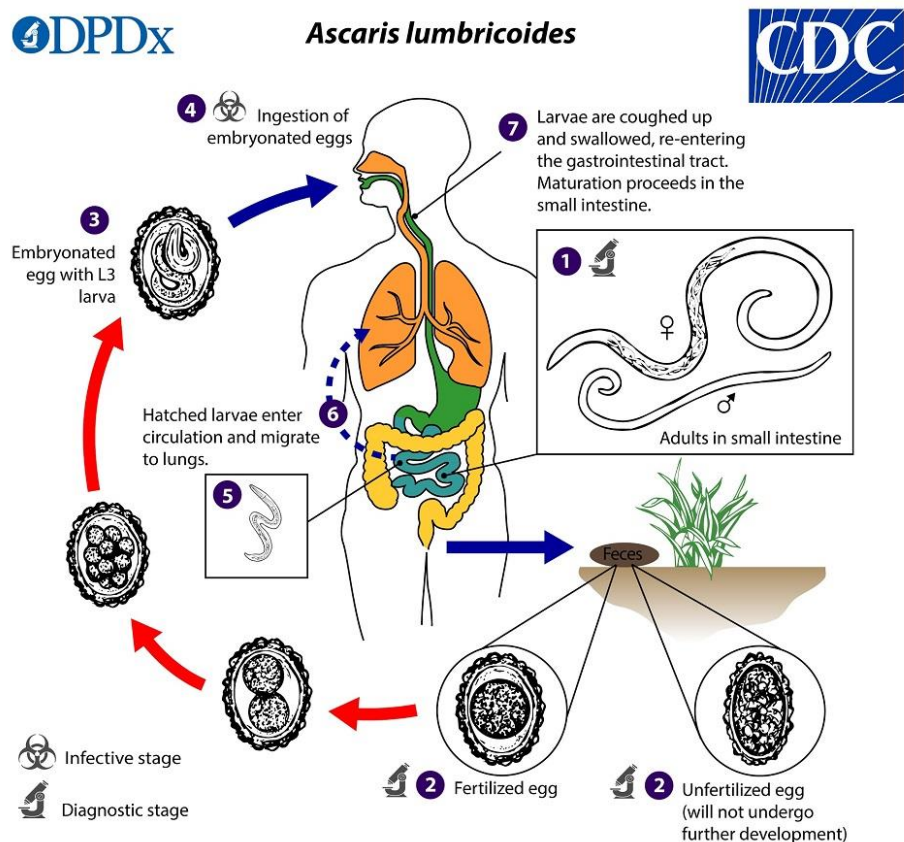
Os metabólitos secretados por *Giardia*, juntamente com as citocinas e as respostas de células T citotóxicas estão relacionados ao dano epitelial e à apoptose de enterócitos (Queixo et al, 2002, Liu et al. 2018). No entanto, não se sabe se os enterócitos são diretamente danificados. A proteína de ligação aos ácidos graxos intestinais (I-FABP) é uma proteína intracelular que atua no metabolismo dos ácidos graxos de cadeia longa e é abundantemente expressa no citosol das células epiteliais da mucosa do intestino delgado. Os níveis plasmáticos aumentados de I-FABP foram associados a lesões específicas do intestino em várias doenças (Peoc'h et al. 2018), no entanto, não se conhece associação entre I-FABP, e, portanto, dano direto de enterócito, e giardíase.

1.4. Ascaríase

A ascaríase é uma geo-helminíase causada pelo *Ascaris lumbricoides*, pode ser uma doença silenciosa, sem apresentar evidências clínicas de infecção. Entretanto, alguns casos, sobretudo os associados à alta carga parasitária, podem evoluir com complicações graves como a oclusão intestinal (Brasil, 2018b; CDC, 2021).

A infecção por esse parasito ocorre a partir da ingestão de ovos embrionados presentes que podem ser inalados com a poeira ou ingeridos em água ou alimentos contaminados. Ao serem deglutidos, as larvas eclodem dos ovos e invadem a mucosa intestinal e vão para pulmão por meio da circulação sistêmica. Nos pulmões, as larvas amadurecem e após penetrar os alvéolos migram para árvore brônquica,

onde são deglutidas. No intestino delgado, as larvas se desenvolvem em vermes adultos. Cerca de dois meses após a ingestão dos ovos, a fêmea realiza a ovoposição, eliminando aproximadamente 200.000 ovos por dia, que saem junto às fezes do hospedeiro, ainda não infecciosos. Em condições ambientais favoráveis (solo úmido, quente e sombreado) os ovos se tornarão infecciosos após 18 dias. Os vermes adultos podem viver até dois anos (Neves, 2016; CDC, 2021) (Figura 1.4).



1 vermes adultos; **2** Ovos não infectantes; **3** Ovos férteis; **4** Ingestão de ovos férteis; **5** larvas invadem a mucosa intestinal e são transportadas pelo circulação portal e, em seguida, pela circulação sistêmica para os pulmões; **6** As larvas amadurecem ainda mais nos pulmões (10 a 14 dias), penetram nas paredes alveolares, sobem pela árvore brônquica até a garganta; **7** larvas são deglutidas.

Figura 1.4: Ciclo de vida de *Ascaris lumbricoides*

Fonte: CDC, 2021.

A Organização Panamericana da Saúde/OMS estima que 820 milhões de pessoas estejam infectadas por *A. lumbricoides* no mundo (OPAS, 2018). No Brasil, a ascaríase possui ampla distribuição, ocorrendo principalmente nas zonas rurais e periferias urbanas que vivem a ausência ou deficiência de saneamento (Brasil, 2018a).

Em revisão realizada nos anos de 2009 e 2010, acerca da prevalência de parasitoses intestinais em escolares de diferentes cidades brasileiras, os autores mostraram que as regiões Norte e Nordeste possuem as mais elevadas frequências de infecção e que o helminto mais encontrado em todas as regiões é o *A. lumbricoides* (Menezes, Medeiros e Dani, 2012).

O Inquérito Nacional de Prevalência da Esquistossomose mansoni e Geohelmintoses (INPEG), o primeiro com abrangência em todos os estados brasileiros, realizado em 197.564 escolares de 7 a 17 anos, mostrou uma prevalência de 6,0% de infecção por *A. lumbricoides*, sendo o parasito encontrado em amostras de 11.531 escolares. Nas regiões Norte e Nordeste foram encontradas as maiores taxas de positividade: Amazonas (19,14%), Maranhão (17,49%), Alagoas (14,26%), Sergipe (12,86%) e Pará (11,78%). Nos outros estados destas regiões, a positividade ficou em torno de 5%, com exceção de Roraima (0,71%) e Rondônia (0,88%). No Rio de Janeiro, Paraná, Santa Catarina em torno de 5%, em Minas Gerais 1,43% e, no Espírito Santo 2,73% (Brasil, 2018b). Na Figura 1.5 estão representados os municípios examinados e as taxas de positividade para ascaríase encontradas no INPEG.

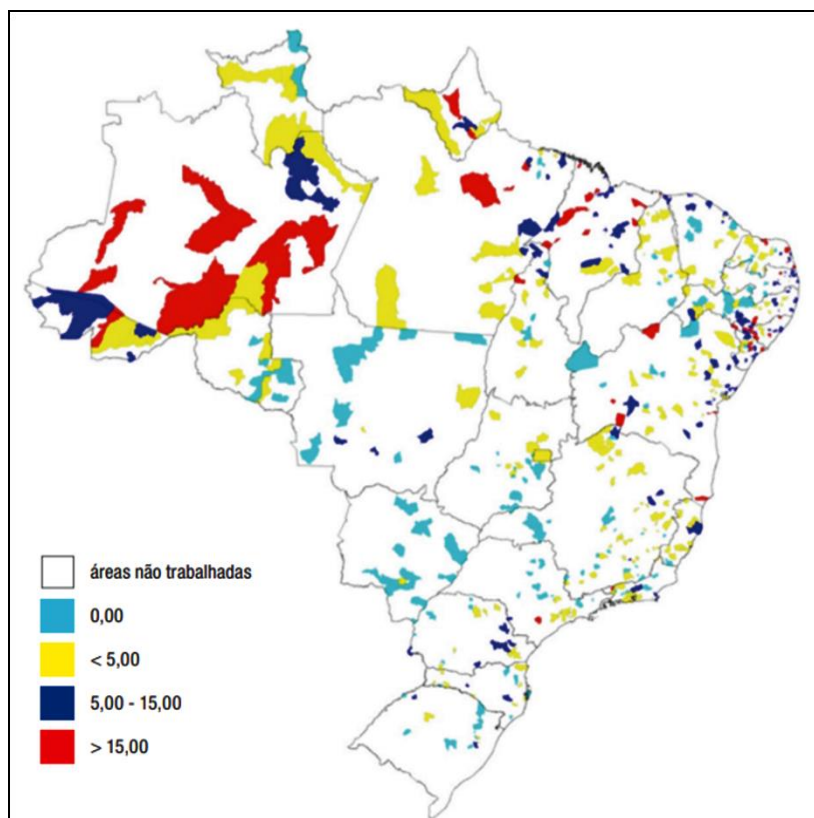


Figura 1.5. Distribuição da ascaríase segundo o INPEG 2010/2015

O INPEG aponta que houve uma expressiva diminuição da prevalência das geo-helmintíases quando comparadas as taxas de inquéritos anteriores realizados no Brasil nos anos de 1916 e 1940-1951, decrescendo mais de 90% em 1947 para aproximadamente 9% em 2015, uma redução superior a dez vezes (Brasil, 2018b).

Apesar da infecção pelo *A. lumbricoides* cursar em muitos casos como assintomática, quando há elevada carga parasitária, 100 ou mais vermes, pode ocorrer déficit nutricional do hospedeiro e complicações como obstrução intestinal. As oclusões intestinais são quadros graves, que podem culminar com a necessidade de realização de cirurgias de emergência, podendo inclusive levar o paciente ao óbito (Neves, 2016; CDC, 2019).

Apesar da ascaríase não ser uma doença de notificação compulsória no Brasil, os óbitos que possuem como causa a geo-helmintíase podem ser

encontrados no Sistema de Informações Sobre Mortalidade. No período de 1996 a 2016 foram notificados 906 óbitos na Categoria CID-10: B77 Ascariíase, conforme a Figura 1.3, o que pode ser considerado alarmante para uma doença prevenível e facilmente tratável.

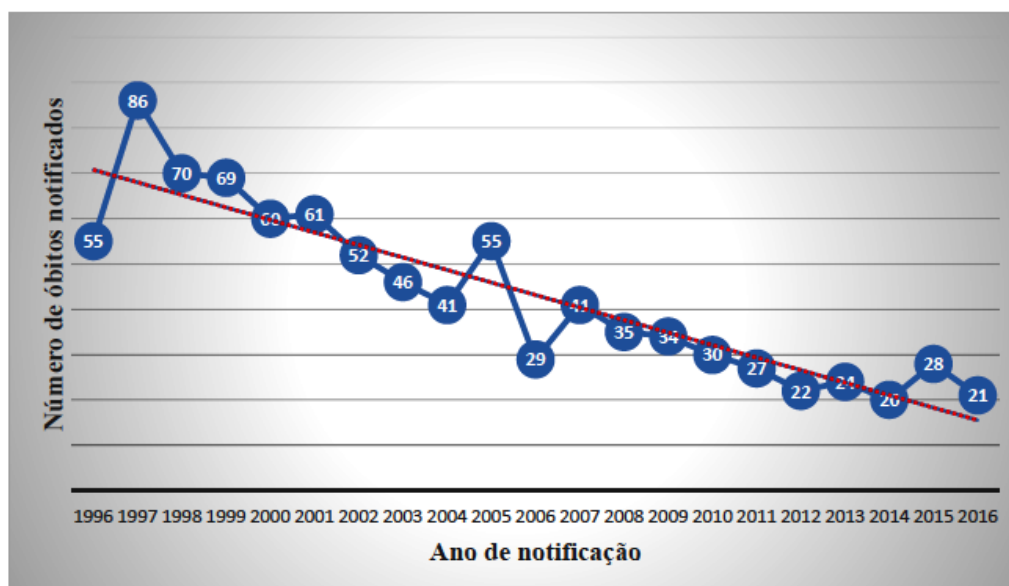


Figura 1.3. Óbitos por ascariíase notificados no Sistema de Informações sobre Mortalidade, no Brasil, no período de 1996-2016.

Fonte: MS/SVS/CGIAE - Sistema de Informações sobre Mortalidade – SIM

Como pode ser observado, houve queda no número de notificação de óbitos, assim como redução na frequência da doença nas estimativas nacionais. Apesar dessa redução, fica constatado que os óbitos decorrentes da infecção ainda fazem parte da realidade brasileira há mais de duas décadas, um legado que corrobora a implementação de ações nas esferas sanitárias e de acesso aos serviços de saúde para eliminação/redução desse problema de saúde pública.

Mesmo com ampla distribuição e elevadas frequências do parasito nos países em via de desenvolvimento, os estudos de epidemiologia molecular sobre *A. lumbricoides* são escassos. São recentes as informações genéticas completas do seu genoma mitocondrial depositados no GenBank (Nejsun et al. 2017).

Cabe destacar que na literatura há discussão sobre o potencial zoonótico da ascaríase. Portanto, as ferramentas moleculares podem ajudar no entendimento das características genéticas e ampliar o conhecimento para subsidiar estratégias de controle desse agente infeccioso (Criscione et al. 2007, Scott, 2008, Sadaow et al. 2018).

Por sua vez, há números significativos de estudos sobre ascaríase no Brasil, entretanto a epidemiologia molecular do parasito ainda é pouco explorada. Estudos recentes têm colocado em pauta a discussão sobre as diferenças genéticas entre *A. lumbricoides* e *A. suum* (Iñiguez et al. 2012, Silva-Alves et al. 2016, Monteiro et al. 2019).

Diferentes alvos gênicos têm sido utilizados no estudo molecular de *Ascaris* sp., como a região *ITS1* (*Internal Transcribed Spacer 1*), cytochrome c oxidase subunit 1 (*cox1*) e NADH dehydrogenase subunit 1 (*nad1*) (Zhu et al. 1999; Peng et al. 2003; Peng et al. 2005). Entretanto, Leles et al. (2010) apontam problemas no trabalho com o alvo da região *ITS1*, pois encontraram alta variabilidade intra-indivíduo em isolados de *Ascaris* sp. do Brasil.

Portanto, estudos epidemiológicos e moleculares de *A. lumbricoides* podem fortalecer o entendimento e dinâmica de dispersão desse helminto e servir de base para criação de planos estratégicos de controle ambientais, que somados aos planos recomendados atualmente, facilitaria a eliminação/redução da ascaríase.

1.5. Prevenção e Controle das Enteroparasitoses

A prevenção e o controle das enteroparasitoses são condicionadas a três elementos principais: saneamento, tratamento dos indivíduos infectados e educação em saúde.

O tratamento, ainda que direcionado aos indivíduos infectados, por si só, não elimina o problema da perpetuação da transmissão, tendo em vista a dispersão dos enteroparasitos no ambiente e em outros animais. Portanto, ainda que se tenha uma

correlação inversa entre a distribuição de medicamentos e a prevalência do parasitismo intestinal, os indivíduos em áreas de vulnerabilidade sanitária podem estar sujeitos à reinfecção, ou seja, viver uma condição cíclica de infecção-tratamento-cura-nova infecção (Frei, Juncansen e Ribeiro-Paes, 2009). Assim, nem sempre um comprimido, como ocorre no enfrentamento das geo-helmintíases, pode ser a solução de um problema que está além de "ter ou não ter o parasito" em determinado momento.

Nesse contexto, quando não há perspectiva de mudanças, principalmente em relação às condições de moradia, nas quais se inclui o acesso à água potável, regular coleta de lixo e esgotamento sanitário, a educação em saúde representa uma ferramenta eficiente na difusão de práticas higiênicas. A educação em saúde pode mitigar o risco à infecção por parasitoses intestinais, mas tratar-se-á de medida paliativa se os investimentos nas demais esferas (saneamento e acesso à saúde) não forem contemplados também como medidas prioritárias no enfrentamento das enteroparasitoses (Austríaco-Teixeira, 2016, Austríaco-Teixeira et al. 2020).

Cabe destacar que as ações educativas em saúde necessitam olhar as "pessoas negligenciadas" em seus diferentes contextos socioculturais, respeitando as peculiaridades locais e individuais, além do grau de instrução e formação escolar da população. Abordagens educativas eficientes proporcionarão, além da mudança nos hábitos do indivíduo assistido, o disseminar das informações dentro do seu núcleo familiar e estendido ao grupo no local onde vive (Neto et al. 2009, Uchoa et al. 2009).

O controle de agentes infecciosos em animais é outro fator a ser considerado no controle da disseminação de enteroparasitos. Sabendo do potencial zoonótico dessas infecções, torna-se salutar a vigilância epidemiológica com diagnóstico e tratamento dos animais que podem servir como disseminadores das parasitoses intestinais aos humanos.

Com característica de país em desenvolvimento, o Brasil é um local que comporta fatores que dificultam o controle desse potencial zoonótico, nos quais estão

incluídos: dificuldade econômica da população para acesso aos médicos veterinários, principalmente as com baixa renda; conscientização da população sobre o problema que representam as parasitoses intestinais e o próprio desconhecimento sobre o caráter antropozoonótico dessas infecções; inexistência de programas governamentais de controle para animais, e o grande número de animais errantes e com estreito vínculo humano (Serra et al. 2003, Vasconcelos et al. 2006, Fiuza et al. 2008, Balassiano et al. 2009).

O saneamento aparece como um dos elementos-chaves não só no enfrentamento das parasitoses intestinais, mas diante de tantas doenças infecciosas relacionadas a água e esgotamento sanitário. A deficiência desse serviço é mencionada como grave ameaça à saúde humana pela OMS, pois causa a morte de milhões de pessoas anualmente. Estima a OMS que aproximadamente 90% das mortes por diarreia são causadas pelo saneamento inadequado, sendo 80% em crianças (OMS, 2017).

No Brasil, as síndromes diarreicas e as verminoses são as duas doenças citadas com maior frequência pelos municípios como causas de endemias relacionadas ao saneamento. Estas estão associadas à ingestão de água e de alimentos contaminados com fezes e, portanto, fortemente vinculadas às condições de saneamento básico (IBGE, 2018).

Apesar do impacto das enteroparasitoses nas populações sob risco, os estudos sobre aspectos sociais, epidemiológicos, clínicos e terapêuticos das parasitoses intestinais são insuficientes, especialmente no Brasil (Andrade et al. 2010).

Este fato, aliado à falta de padronização ou indisponibilidade de um exame coproparasitológico que seja sensível o suficiente para detectar as diferentes formas evolutivas de helmintos e protozoários, dificulta o reconhecimento da dimensão destas infecções na população. Por meio do Plano Nacional de Vigilância e Controle das Enteroparasitoses, o Brasil traçou em seus objetivos a identificação dos principais fatores de risco associados às parasitoses intestinais, assim como o

conhecimento sobre o comportamento epidemiológico das doenças quanto ao agente etiológico, pessoa, tempo e lugar, agente, hospedeiro e meio ambiente (Brasil, 2005). Aliado ao plano, no ano de 2011, o Ministério da Saúde definiu um conjunto de doenças para ações estratégicas de enfrentamento e controle com a criação do Plano Integrado de Ações Estratégicas.

Entretanto, as ações elencadas nos respectivos projetos privilegiam o tratamento populacional em massa e são direcionadas exclusivamente às helmintíases, desconsiderando o impacto das parasitoses intestinais provocadas por protozoários (Brasil, 2005, Brasil, 2013, Brasil, 2015, Brasil, 2017).

1. 6. Parasitoses Intestinais e Saneamento Básico no Brasil

O saneamento básico possui marco regulatório no Brasil por meio da Lei do Saneamento (Lei N° 11.445/2007), sendo o saneamento definido em uma visão ampla associada aos aspectos de saúde e do meio ambiente natural e construído: serviços de abastecimento de água, esgotamento sanitário e tratamento dos efluentes, coleta e destinação final dos resíduos sólidos, drenagem urbana e controle de vetores (Brasil, 2007).

Existem grandes diferenças relacionadas à cobertura do saneamento básico nas regiões brasileiras. As regiões Norte e Nordeste são as que possuem localidades com mais baixo índice de desenvolvimento humano, sendo as mais necessitadas de investimentos na área (Brasil, 2018; Paiva e Souza, 2018), "coincidentalmente" também são as regiões com as mais elevadas prevalências de parasitoses intestinais.

Estudo realizado na Bahia mostrou o impacto positivo de um programa de saneamento na redução da prevalência das parasitoses intestinais. Houve uma redução de 24,4% para 12,0% na frequência da infecção por *A. lumbricoides* e de 14,1% para 5,3% da frequência de *G. intestinalis*, resultados que evidenciam a

necessidade de investimentos em esgotamento sanitário e políticas de promoção da saúde (Barreto et al. 2010).

Há uma estreita associação entre o saneamento e as internações por doenças de veiculação hídrica no país. Paiva e Souza (2018) mostraram uma relação significativa entre a cobertura por coleta de esgoto e o número de internações. No mesmo sentido, o IBGE menciona que os óbitos por diarreia na infância estão relacionados com a precariedade do serviço de esgotamento sanitário do país (Brasil, 2010).

Os principais temas discutidos nas produções científicas sobre a relação entre saneamento e parasitoses intestinais no Brasil incluem: vulnerabilidade de grupos minoritários, condições de moradia, falta de água e qualidade da água usada para beber, ausência de rede de esgoto e solos contaminados (Austríaco-Teixeira, 2020).

A vulnerabilidade sanitária de grupos minoritários foi principalmente relacionada nos estudos realizados em assentamentos, quilombos e áreas indígenas (Damazio et al. 2013, Simões et al. 2015, Silva et al. 2018).

As áreas rurais também merecem destaque na relação saneamento versus enteroparasitoses, pois aparecem como locais desprovidos de investimentos em saneamento, o que favorece a infecção por parasitos intestinais nessas regiões (Mati, Pinto e Melo, 2011).

Vale salientar que no Brasil existe uma omissão flagrante do poder público em relação às populações vulneráveis social e sanitariamente, onde é alta a transmissão e persistência das parasitoses intestinais. Revelam-se incongruências no Plano Nacional e Controle de Enteroparasitoses, onde as estimativas nacionais e regionais podem estar subestimadas (Moraes-Neto et al, 2010).

1.7. Justificativa

No estado do Rio de Janeiro, há registros de alta prevalência de parasitismo intestinal, especialmente em áreas de vulnerabilidade social e sanitária (Fantinatti et al. 2016, Ignacio et al. 2018, Barbosa et al. 2018). Neste estudo, a integração de dados parasitológicos, epidemiológicos e imunológicos – obtidos de pessoas – permitirá a identificação do perfil de infecção de parasitos intestinais como *G. intestinalis* e, assim como a elucidação dos mecanismos envolvidos no dano ao hospedeiro.

Visto que a transmissão das parasitoses intestinais pode ser favorecida em ambientes de concentração demográfica, os aglomerados urbanos subnormais do estado do Rio de Janeiro representam locais estratégicos para novos estudos. Neste sentido, a abordagem socioambiental nas comunidades do Imbariê e Salgueiro aqui proposta tem o potencial de integrar dados gerando um diagnóstico de situação e contribuindo para a compreensão de ciclos de transmissão. Pesquisas em comunidades urbanas do Rio de Janeiro têm alertado para a possibilidade de transmissão zoonótica de *G. intestinalis*, que pode ser favorecida por fatores socioambientais e pela falta de políticas públicas de saneamento.

Inquéritos epidemiológicos associados ao estudo das variáveis sociodemográficas de risco para infecção parasitárias permitem o aprimoramento de estratégias de controle e formulações de políticas públicas, especialmente na atenção primária em saúde, no cenário brasileiro.

Especificamente, na giardíase, um estudo que avalie a resposta imunológica pode ajudar a elucidar a relação entre a ruptura da barreira da mucosa intestinal e as manifestações clínicas em indivíduos infectados. Tanto o parasito quanto o dano epitelial imunomediado foram observados *in vitro* e em modelos animais. No entanto, se os enterócitos são diretamente danificados durante a infecção ainda é uma lacuna a ser preenchida. Por outro lado o impacto dessas alterações, que ocorrem em

decorrencia do parasitismo intestinal, no desenvolvimento físico e cognitivo das crianças parasitadas também ainda é um campo pouco explorado.

Esse estudo aborda fatores socioambientais como determinantes de infecção por parasitos intestinais e o impacto dessas infecções na saúde humana, mais especificamente, avaliando alterações que a giardíase pode induzir na funcionalidade intestinal e a provável influencia no desenvolvimento das crianças. Neste sentido, o conhecimento sobre a prevalência, fatores associados e alterações imunopatogênicas poderão contribuir para o aperfeiçoamento das medidas de controle do parasitismo intestinal, e no entendimento de que essas infecções podem ser causa relevante de distúrbio sistêmicos.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivos gerais:

- 1) Caracterizar a prevalência, distribuição e perfil etiológico do parasitismo intestinal em indivíduos em uma área de vulnerabilidade social e sanitária do estado do Rio de Janeiro, Brasil;
- 2) Identificar se o dano aos enterócitos está relacionado a alterações nas respostas imunológicas em crianças infectadas com *Giardia intestinalis* que vivem em uma área de vulnerabilidade social e sanitária do estado do Rio de Janeiro, Brasil.

2.2. Objetivos específicos:

- Realizar o diagnóstico de situação quanto à prevalência de protozoários e helmintos intestinais na população e em amostras ambientais;
- Caracterizar a distribuição e os fatores sociodemográficos associados às parasitoses intestinais;
- Avaliar a percepção dos moradores sobre a problemática das parasitoses intestinais na comunidade;

- Avaliar se há dano de enterocitos na infecção por giárdia e se esta está associada com alteração de citocinas sistêmicas.

3. METODOLOGIA

3.1. Estudo socioambiental da infecção por enteroparasitos em áreas de vulnerabilidade social e sanitária do estado do Rio de Janeiro, Brasil

3.1. 1. Locais de estudo

Com desenho transversal, o estudo foi realizado em duas localidades do estado do Rio de Janeiro: a) Comunidade do Salgueiro, localizada no bairro da Tijuca, no município do Rio de Janeiro; b) Bairro Imbariê, no município de Duque de Caxias. As duas regiões apresentam vulnerabilidade social e sanitária, predominando populações de baixa renda, em um ambiente de segurança pública deficiente, saneamento básico precário e carência no acesso aos serviços de saúde.

3.1.1.1. Comunidade do Salgueiro

Com base no Censo 2010 do IBGE (Brasil, 2010), o Salgueiro é uma comunidade urbanizada que possui uma população estimada em pouco mais de três mil moradores, 869 domicílios, com uma densidade demográfica elevada de 177,8 habitantes/hectare. Na comunidade em questão, 31% da população se inclui na faixa etária entre zero e 14 anos e apenas 4% na faixa etária acima de 65 anos de idade, o que indica um padrão baixo de envelhecimento da população. O cenário da comunidade reflete pobreza econômica, incluindo ausência de rede de esgoto, falta de pavimentação, abastecimento de água parcial e irregular, coleta de lixo regionalizada.

O estudo na Comunidade do Salgueiro foi realizado tendo como referência a creche municipal que atende aos moradores locais. A respectiva creche é cenário de estudo da linha de pesquisa de Parasitoses Intestinais do Laboratório Interdisciplinar de Pesquisas Médicas desde o ano de 2014. Entretanto, o estudo foi interrompido nos anos de 2016 e 2017 por falta de segurança pública, sendo retomada a coleta de amostras no ano de 2018.

A creche possuiu 125 e 120 pré-escolares de um a quatro anos matriculados, nos anos de 2018 e 2019 respectivamente, e conta com 30 funcionários distribuídos nas funções de cozinheiro, merendeiro, auxiliar de limpeza, professor, recreador, coordenação e direção.

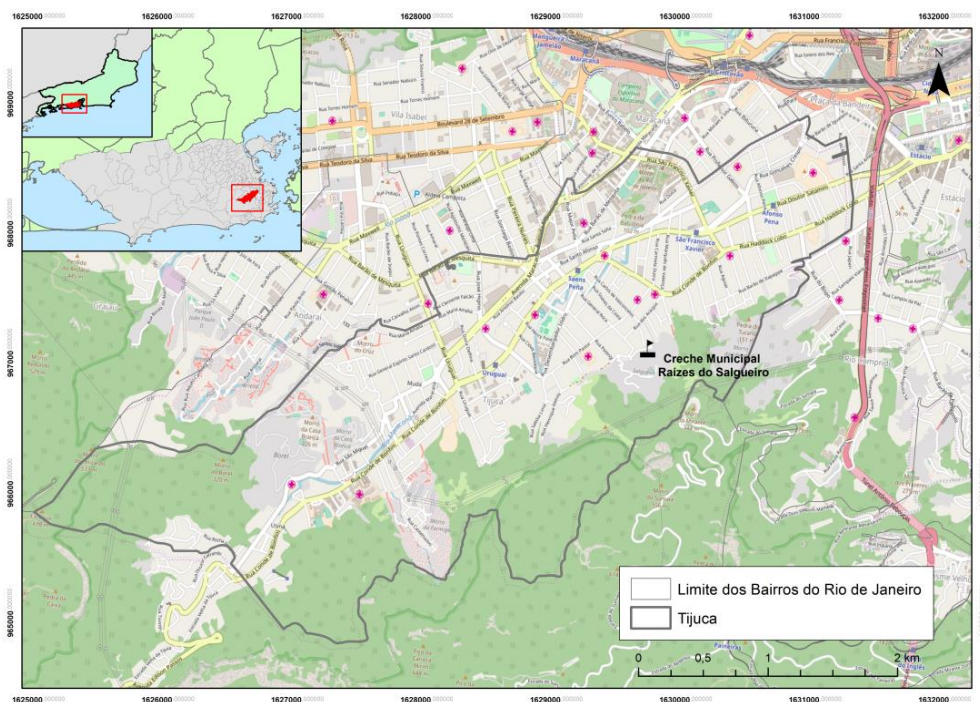


Figura 3.1. Localização da Creche Municipal Raízes do Salgueiro, no bairro da Tijuca, no município do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil, 2018

3.1.1. 2. Bairro de Imbariê

O estudo no bairro surgiu de uma parceria estabelecida entre a Secretaria Municipal de Saúde de Duque de Caxias e o Laboratório Interdisciplinar de Pesquisas Médicas/IOC-FIOCRUZ juntamente com a Disciplina de Parasitologia da Faculdade de Ciências Médicas/Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Imbariê é um bairro localizado no 3º distrito (distrito Imbariê) do Município de Duque de Caxias/RJ. O respectivo distrito é responsável por 15% do território e, apesar de também ser classificado como área urbanizada, apresenta mais de um terço (35%) definido como zona rural, inclusive aglomerado rural, configurando uma situação de transição em termos de urbanização (Brasil, 2010).

Em 2010, a população do bairro foi estimada em 34.157 habitantes. Cerca de 93,7% dos moradores vivem em condição semi adequada de saneamento, com 91,9% dos domicílios tendo poço ou nascente como fonte de água, e pouco mais de 73% abastecidos com rede geral de esgoto ou pluvial (Brasil, 2010).

A unidade de saúde da família de Imbariê (Estratégia de Saúde da Família - ESF Imbariê), localizada no bairro possui 846 famílias cadastradas para atendimento, sendo assistidos aproximadamente 3.000 indivíduos e conta com uma equipe multidisciplinar para prestar assistência ao nível da atenção básica no código de área 24 (Prefeitura Municipal de Duque de Caxias).

No ano de 2018, a ESF Imbariê contou com oito profissionais: uma enfermeira, um médico, um dentista, uma técnica de enfermagem, uma técnica administrativa e 3 agentes comunitários de saúde (ACS).

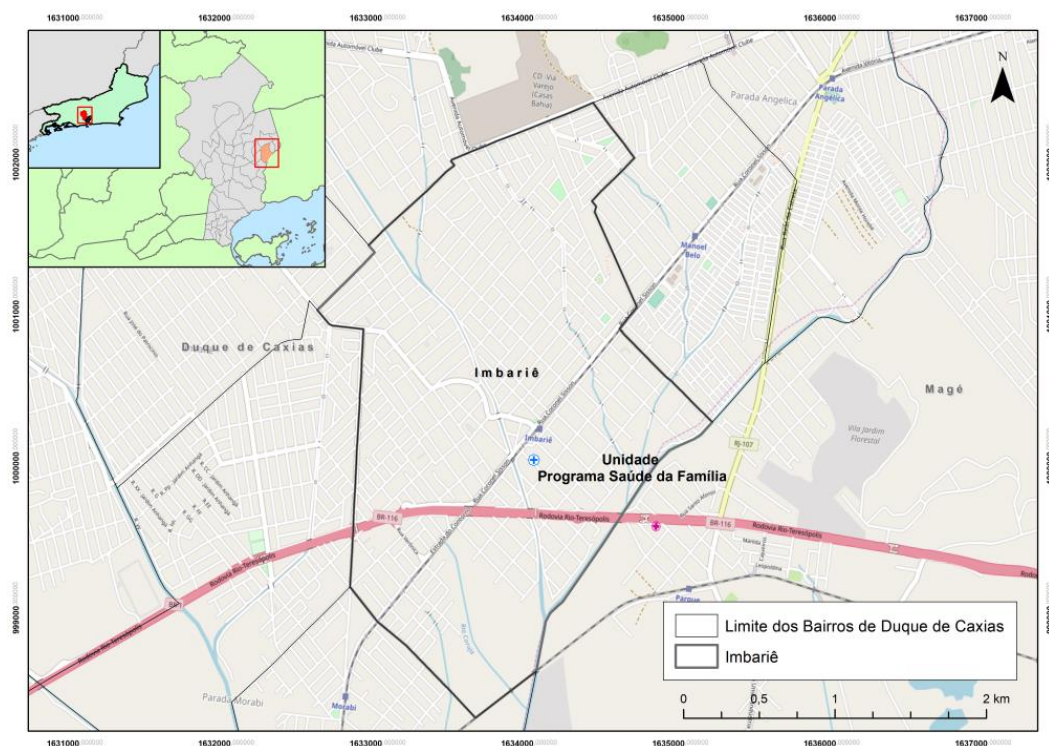


Figura 3.2. Localização da área de estudo no município de Duque de Caxias, Rio de Janeiro, Brasil, 2018

3.1. 2. Amostragem e coleta de informações socioeconômicas

3.1. 2.1. Salgueiro

Para o estudo socioambiental foram incluídas no estudo todas as crianças da creche nos anos de 2018 e 2019, além de funcionários e contactantes que aceitaram participar do estudo e forneceram amostra fecal. Antes do início da realização do estudo, foram realizadas reuniões com os funcionários da creche e com os pais e/ou responsável para explicação da pesquisa. No total, foram incluídas 84 crianças, sendo 55 amostras coletadas em 2018 e 29 em 2019. Além disso, 17 contactantes forneceram amostras no ano de 2018 e três em 2019.

3.1. 2. 2. Imbariê

Nesta comunidade, foi realizada uma estratégia de recrutamento e amostragem diferente da desenvolvida no Salgueiro. Foi selecionada para estudo uma área assistida pela Unidade de Estratégia de Saúde da Família (ESF), que divide seu atendimento em seis microáreas. Todas as famílias das 6 microáreas na ESF foram incluídas no estudo. Estimou-se uma taxa de retorno das amostras fecais de 30%, de modo que se obteve a inclusão de 462 moradores.

Os domicílios foram visitados na presença de pelo menos um membro da ESF, havendo posteriormente explicação sobre o projeto, convite para a participação no estudo e preenchimento de questionário socioeconômico (Apêndice 1) e do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

3. 1. 3. Detecção de infecção por parasitos intestinais

Foram entregues coletores sem adição de conservantes para os participantes da pesquisa ou seus respectivos responsáveis, com informação sobre a forma correta de coleta no momento da entrega.

Em Imbariê, as amostras foram recebidas no próprio domicílio do participante ou na Unidade Básica de Saúde, conforme conveniência para o participante da pesquisa. As amostras foram armazenadas em isopor com gelo e imediatamente transportadas para o Laboratório de Práticas da Disciplina de Parasitologia/FCM-UERJ e Laboratório Interdisciplinar de Pesquisas Médicas/FIOCRUZ, onde foram retiradas duas alíquotas para realização de diagnóstico molecular e criopreservadas a -20°C em microtubos de 2,0 mL até o processamento. O restante da amostra foi submetida ao exame parasitológico de fezes (EPF), sendo utilizados os métodos parasitológicos Ritchie e Kato-Katz, a fim de detectar cistos de protozoários e

também ovos de helmintos. Para cada amostra foram confeccionadas três lâminas, sendo a leitura no microscópio realizada por pelo menos três profissionais.

Na comunidade do Salgueiro, as crianças que usavam fralda tiveram as amostras coletadas na própria creche, após autorização do responsável. As demais amostras, coletadas no domicílio, foram recebidas na creche. Posteriormente, seguiam o mesmo acondicionamento e transporte aos laboratórios supracitados para o processamento e realização do EPF.

Os pacientes com diagnóstico parasitológico positivo foram referenciados à unidade básica de saúde, onde foram tratados com drogas preconizadas pelo Ministério da Saúde.

3.1. 4. Análise estatística

As variáveis incluídas no questionário foram: sexo, idade, número de moradores, renda familiar mensal, origem da água utilizada para consumo, tratamento realizado na água antes do consumo, destino das fezes e a presença de animais na residência.

Os resultados são apresentados como estatísticas descritivas (frequências), para definir a prevalência da infecção por parasitoses intestinais nos locais de estudo. Posteriormente foram calculadas as frequências de positividade distribuídas por sexo, faixa etária, nível socioeconômico, número de moradores na casa, tratamento das fezes e origem de água. Análises estatísticas foram realizadas com Epi Info 2000® (CDC, Atlanta, Georgia, EUA) como taxas de prevalência de diferentes espécies de parasitos em categorias sociodemográficas distintas. Foram calculadas as razões de prevalência e respectivos IC95%. A significância estatística das associações foi avaliada pelo teste exato de Fisher, com um limiar de significância de $p < 0,05$.

3.1. 5. Avaliação da contaminação ambiental em amostras de animais errantes e de água para consumo

O diagnóstico ambiental foi realizado pela análise parasitológica de amostras fecais de animais errantes e análise molecular de água (para *G. intestinalis*). As amostras ambientais foram coletadas por conveniência, ou seja, em áreas de acesso comum e com grande circulação de pessoas, como os parques infantis, locais com acesso livre de animais e fonte de água para as comunidades, bem como amostras do peridomicílio de indivíduos parasitados.

As amostras de fezes de animais errantes foram coletadas em pontos estratégicos das comunidades em parceria com os Agentes Comunitários de Saúde (ACS) e os moradores das comunidades, tendo em vista a dificuldade no deslocamento dentro de alguns espaços em virtude do poder do tráfico de drogas ilícitas. Estas também foram acondicionadas em coletores sem adição de conservantes e foram utilizados os métodos parasitológicos de Kato-Katz e Ritchie, a fim de detectar ovos de helmintos e cistos de protozoários. Foram coletadas dez amostras de cães no Salgueiro e 34 em Imbariê.

As amostras de água foram coletadas e acondicionadas em frascos estéreis de um litro, no volume total de dois litros para cada ponto de coleta. As amostras foram coletadas em fontes que abastecem as localidades, em residências de indivíduos infectados por *G. intestinalis*, mais precisamente a água de torneira utilizada para consumo, além de amostra de demanda espontânea a partir do interesse do participante do estudo. Para o diagnóstico de *G. intestinalis*, as amostras de água foram distribuídas em tubos de 50mL e centrifugadas para obtenção de um sedimento. O sedimento foi submetido à extração de DNA com o uso do KIT "stool QIAGEN mini kit" e a reações em cadeia da polimerase (PCR) e Nested-PCR.

Foram coletadas 22 amostras de água em Imbariê no período de novembro de 2018 a janeiro de 2019. Destas, dez foram amostras de água do domicílio dos

indivíduos positivos para *G. intestinalis*, três amostras coletadas de “bicões” que funcionam como fonte de abastecimento para muitos moradores e as nove restantes são decorrentes de análises solicitadas pelos moradores no momento da entrega da amostra de fezes. Na comunidade do Salgueiro foram coletadas 10 amostras de água, no mês de junho de 2018, todas em locais de abastecimento comum para os domicílios.

3.1. 6. Diagnóstico e caracterização molecular de *Giardia intestinalis*

As amostras de fezes ou sedimentos das amostras de água tiveram seu DNA extraídos com “stool QIAGEN mini kit” e foram submetidos a reações em cadeia da polimerase (PCR) e a Nested-PCR, para o gene conservado que codifica a proteína *Beta-giardina* (β -*gia*) e *Glutamato desidrogenase* (*gdh*). A eficiência das reações de amplificação foi verificada por eletroforese em gel de agarose 1%. Foram utilizados como controle positivo o DNA extraído do cultivo axênico da cepa de *G. intestinalis* (C6 WB ATCC50803) e como controle negativo o DNA extraído do cultivo axênico de *Trichomonas vaginalis*.

Os produtos obtidos na PCR, foram purificados usando o NucleoSpin® Gel and PCR Clean-up, segundo as instruções do fabricante. Os produtos purificados foram submetidos à reação de sequenciamento com utilização do BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems). As etapas seguintes de precipitação e eletroforese foram realizadas no serviço de sequenciamento da Plataforma de Sequenciamento de DNA da FIOCRUZ (Otto et al. 2007).

Os eletroferogramas serão analisados por meio do programa *Chromas*, a caracterização das sequências foi realizada por meio da *Basic Local Alignment Search Tool* usando nucleotídeo (BLASTn) e a montagem dos *contigs* foi realizada pelo *CAP3 Sequence Assembly Program*. As sequências nucleotídicas da Glutamato Desidrogenase (*gdh*) e da β -giardina (β -*gia*) de *G. duodenalis* foram alinhadas pelo software *CLUSTAL W* (Thompson et al. 1994) no pacote do programa *Molecular*

Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) 7.0 (Kumar et al. 2016). A análise filogenética foi desenvolvida no MEGA e para estimativa de distância foi utilizada a equação de JIN & NEI (1990) (modelo Kimura 2-parâmetros). As árvores filogenéticas foram construídas utilizando o algoritmo de neighbor-joining (Saitou & Nei 1987). Para a construção, a veracidade de cada ramo é conferida por análise de *bootstrap* (1000 repetições). Para o alinhamento dos novos isolados foram utilizadas sequências de referência pertencentes aos genótipos (A-H) de *G. duodenalis* disponíveis no GenBank.

Tabela 3.1. Sequências de oligonucleotídeos dos iniciadores e condições para a reação em cadeia da polimerase empregada na amplificação do DNA extraídos das amostras clínicas e dos controles

	Locus	Nome	Sequência (5'→3')	MgCl ₂ (mM)	Desnaturação	Hibridização	Extensão	Ciclos	Produto (bp)	Referências
PCR	<i>Gdh</i>	GDH1	TTCCGTRTYCAGTACAACCTC	3	94°C/30s	55°C/30s	72°C/1min	35	754	Cacciò et al. 2008
		GDH2	ACCTCGTTCTGRGTGGCGCA							
Nested-PCR	<i>Gdh</i>	GDH3	ATGACYGAGCTYCAGAGGCACGT	3	94°C/30s	55°C/30s	72°C/1min	35	532	Cacciò et al. 2008
		GDH4	GTGGCGCARGGCATGATGCA							
PCR	<i>β-gia</i>	G7	AAGCCCGACGACCTCACCCGCAGTGC	3	94°C/30s	62°C/30s	72°C/1min	35	753	Cacciò et al. 2002
		G759	GAGGCCGCCCTGGATCTTCGAGACGAC C							
Nested-PCR	<i>β-gia</i>	β-GIA F	GAACGAACGAGATCGAGGTCCG	3	94°C/30s	55°C/30s	72°C/1min	35	511	Lalle et al. 2005
		β-GIA R	CTCGACGAGCTTCGTGTT							

3.1. 7. Diagnóstico e caracterização molecular de *Cryptosporium* spp.

O DNA extraído das amostras foi submetido ao diagnóstico molecular por PCR para *Cryptosporidium* spp. a partir da amplificação do gene conservado SSu

rRNA (Xiao, 1999). Todas amostras foram submetidas à amplificação de toda a extensão do gene SSu rRNA através da PCR convencional.

Para o MIX da PCR foram utilizados: Tampão (-MgCl₂) em uma concentração final de 1x; 5mM de MgCl₂; 200 mM de cada Desoxirribonucleotídeo Fosfatado (dNTP's); 1.0 U de Taq DNA polimerase (todos da Invitrogen Life Technologies, São Paulo, SP-Brasil); 100 nM de cada iniciador (Exxtend, SP-Brasil) e 2.5 µL de amostra de DNA em volume final de 25 µL da reação.

As condições da PCR foram as mesmas descritas por Xiao et al. 1999, sendo a hibridização dos iniciadores a 61°C por 45 segundos e extensão final a 72°C por 7 minutos. O DNA obtido de cultura de trofozoítos *G. intestinalis* foi utilizado como controle negativo da reação.

As amostras positivas na PCR foram submetidas a análise por PCR RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*). Inicialmente foi realizada uma PCR primária a fim de amplificar um produto de PCR com cerca de 1.325 pb de comprimento, conforme iniciadores da reação já descritos por Xiao et al. (1999). Na PCR primária foram utilizados: tampão (-MgCl₂) em uma concentração final de 1x; 6 mM de MgCl₂; 2.5 U de Taq DNA Polimerase; 200 µM de dNTP (Invitrogen Life Technologies, São Paulo, SP-Brasil); 500 nM de iniciador (Exxtend, SP-Brasil); e 2 µL de amostra de DNA em um volume total de 50 µL da mistura da reação. A amplificação foi executada em total de 35 ciclos, cada um consistindo em 94°C por 45 segundos de desnaturação, 58°C por 45 segundos de hibridização e 72°C por 1 minuto de alongamento, com uma desnaturação inicial a 94°C por 3 minutos e uma extensão final a 72°C por 7 minutos.

Na Nested PCR objetivou-se amplificar um produto de PCR de 819 a 825 bp de comprimento usando 2 µL do produto da PCR primária a partir dos iniciadores de reação descritos anteriormente (Xiao, 1999). A mistura da PCR foi a mesma utilizada anteriormente, com exceção da concentração de MgCl₂ que foi de 3 mM, 100 nM de cada iniciador e 1.0 U de Taq DNA Polimerase. A amplificação ocorreu em um total de 25 ciclos, sendo cada um composto por desnaturação (94°C por 45

segundos), hibridização (59°C por 30 segundos) e extensão (72°C por 45 segundos). Foi realizada uma desnaturação inicial a 94°C por 3 minutos e uma extensão final a 72°C por 7 minutos. A tabela 3.2 mostra as sequências de oligonucleotídeos dos iniciadores e condições para a PCR, PCR-RFLPe Nested PCR utilizadas na amplificação do DNA extraídos das amostras clínicas e dos controles.

Todas amplificações foram feitas usando o Termociclador Mastercycler® gradient de 96 poços (Eppendorf AG, Hamburg-Germany).

Tabela 3.2. Sequências de oligonucleotídeos dos iniciadores e condições para a reação em cadeia da polimerase empregada na amplificação do DNA extraídos das amostras clínicas e dos controles

Locus	Nome	Sequência (5'→3')	MgCl ₂ (mM)	Desnaturação	Hibridização	Extensão	Ciclos	Produto (bp)	Referências
PCR		AACCTGGTTGATCCTGCCAGTAGTC TGATCCTTCTGCAGGTTACCTACG	5	94°C/45s	61°C/45s	72°C/60s	35		Xiao et al. 1999
PCR- RFLP		TTCTAGAGCTAATACATGCG CCCTAATCCTTCGAAACAGGA	6	94°C/45s	58°C/45s	72°C/60s	35	1325	Xiao et al. 1999
Nested- PCR		GGAAGGGTTGTATTTATTAGATAAAG AAGGAGTAAGGAACAACCTCCA	3	94°C/45s	59°C/30s	72°C/45s	25	819 a 825	Xiao et al. 1999

A caracterização de *Cryptosporidium* foi realizada por RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*), na qual a identificação de espécie foi ocorreu a partir da digestão com a enzima SspI e a identificação de genótipo com a enzima AseI. Para a análise dos fragmentos resultantes da digestão enzimática, 20 µL do produto da Nested PCR foi digerido em um total de 50 µL da mistura da reação, sendo em 10 U da enzima SspI (New England BioLabs® inc. Beverly, Mass) para o diagnóstico da espécie e 10 U de AseI (NewEngland BioLabs® inc. Beverly, Mass) para a genotipagem de espécies de *Cryptosporidium* e 5 µL do tampão da

respectiva enzima de restrição a 37°C por 1 hora, conforme especificações do fabricante (Xiao et al. 1999).

Os produtos digeridos foram fracionados em gel de agarose a 2,0% agarose (Invitrogen Life Technologies, Auckland, New Zealand) e visualizados em um transluminador (BioRad, Milan Italy) sob luz Ultravioleta após coloração com GelRed a 3x (Biotium, Glowing Products for Science TM, Hayward) segundo as instruções do fabricante.

3. 1. 8. Relato sobre parasitoses intestinais no cotidiano

Na creche do Salgueiro e em Imbariê, os profissionais da creche e os moradores foram solicitados a responder um questionário com perguntas abertas sobre parasitoses intestinais no seu cotidiano de trabalho. Os participantes foram questionados sobre: se algum profissional de saúde já havia conversado sobre parasitoses intestinais com eles; se já haviam presenciado algum fato no seu local de trabalho ou na comunidade relacionado às enteroparasitoses (Apêndice 1).

3. 2. A giardíase altera os níveis de proteína ligante de ácidos graxos intestinais (I-FABP) e de citocinas plasmáticas em crianças no Brasil

3. 2. 1. Amostragem e diagnóstico de giardíase

Estudo transversal foi realizado em fevereiro a dezembro 2015 em uma creche na favela urbana do Salgueiro, localidade já descrita no item anterior. Para a seleção de pré-escolares infectados por *G. intestinalis* (*Giardia*-positivo) ou não (*Giardia*-negativo), amostras de fezes foram obtidas de 105 crianças (idades variando de 10 meses a quatro anos) e utilizadas em ensaios parasitológicos e PCR para a detecção de DNA de *Giardia*. Foi fornecido um dispositivo de coleta

acompanhado de instruções aos responsáveis pelas crianças e voluntários da creche.

Uma amostra de fezes de cada participante foi examinada para protozoários e helmintos intestinais por três métodos: Ritchie, Kato-Katz e sedimentação espontânea. Crianças infectadas ou coinfectadas por outros protozoários intestinais patogênicos ou helmintos foram excluídas. Foram incluídas no estudo trinta e uma crianças (19 *Giardia* - positivo e 12 *Giardia*-negativo).

3. 2. 2. Avaliações antropométricas

As aferições foram realizadas na própria creche, em um único momento. As aferições foram realizadas com o apoio da equipe de enfermagem do Programa de Saúde da Família do Centro Municipal de Saúde Heitor Beltrão. Os sujeitos foram avaliados quanto aos parâmetros antropométricos. Os escores de desvio padrão (escores Z) de peso para altura (WHZ), comprimento para idade (LAZ) e peso para idade (WAZ) foram calculados de acordo com o gráfico de crescimento de 1978 da Organização Mundial da Saúde.

3. 2. 3. Coleta de amostras de sangue

Para a avaliação dos parâmetros hematiméricos e leucocitários foi realizado o exame hemograma completo. Os participantes do estudo foram submetidos a punção venosa, em tubo de 5mL heparinizado, para a realização do exame, que foram realizados pelo Laboratório Bronstein Medicina Diagnóstica – Diagnósticos da América SA (DASA), localizado na Unidade da Praça Saens Pena, nº45, Loja 326, shopping 45, Tijuca, Rio de Janeiro - RJ. As amostras de plasma foram separadas e as alíquotas armazenadas a -70 ° C para análise imunológica.

3. 2. 4. Quantificação da proteína de ligação aos ácidos graxos intestinais (I-FABP) e citocinas no plasma

Os níveis de I-FABP foram determinados por ELISA (Duo Set; R&D Systems, Minneapolis, MN, EUA). Os resultados foram expressos em pg / mL e o limite mínimo de detecção foi de 31,2 pg / mL.

Para a medição de citocinas, foi utilizado um imunoenensaio biométrico multiplex contendo micropérolas coradas com fluorescência (BioRad Laboratories, Hercules, CA, EUA). As seguintes citocinas foram quantificadas: IFN- γ , TNF, IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17, MCP-1 e MIP-1 β . Os níveis de citocinas foram calculados pela tecnologia Luminex (Bio-Plex Workstation; Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, EUA). A análise dos dados foi realizada por meio de software fornecido pelo fabricante (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, EUA). Uma faixa de 0,51–8000 pg / mL de citocinas recombinantes foi usada para estabelecer as curvas padrão e a sensibilidade do ensaio. Os resultados foram expressos como a intensidade mediana de fluorescência (MFI) (Breen, Polaskova, Khan, 2015).

3. 2. 5. Análise estatística dos dados

As análises estatísticas foram realizadas com o software GraphPad Prism (versão 7.0, San Diego, CA, EUA). Os testes de Mann-Whitney foram realizados para comparações entre dois grupos. Um teste *t* de Student foi usado adicionalmente quando os testes de Mann-Whitney indicaram uma tendência e os dados estavam normalmente distribuídos. O teste de Spearman foi usado para análise de correlação e o teste de Pearson foi usado para análise de matriz de correlação. As variáveis contínuas foram expressas como medianas e intervalos interquartílicos (IQRs). As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando o valor *p* era igual ou inferior a 0,05. Análises de regressão linear multivariada (software IBM SPSS, versão 22.0, IBM, EUA) foram utilizadas para determinar a influência das

variáveis intervenientes nos níveis de I-FABP. Infecção por *Giardia* e níveis de citocinas no MFI foram considerados como variáveis independentes.

3.3. Aspectos Éticos

A equipe da pesquisa informou aos participantes do estudo que as fezes cedidas seriam utilizadas para fins de diagnóstico e pesquisa, e que seria obtido o material genético (DNA) unicamente para pesquisa. A equipe esteve à disposição para esclarecer dúvidas sobre o estudo e as enteroparasitoses, bem como sobre a utilização do material biológico e os resultados obtidos com o estudo.

Aqueles que aceitaram participar do estudo foram incluídos na pesquisa após assinatura própria ou do responsável (menores de 18 anos) do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, além do Termo de Assentimento Livre e Esclarecido, quando necessário, consubstanciados pelos pareceres do Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Oswaldo Cruz CAAE:19705613.9.0000.5248 e 90779017.7.0000.5248 (Anexo 2 e 3).

O projeto foi desenvolvido em parceria com as unidades de saúde e assistência sociais locais, e os pacientes que necessitaram de atendimento e acompanhamento que transcenderam o presente estudo foram referenciados aos serviços citados.

4. RESULTADOS

4.1. Estudo socioambiental da infecção por enteroparasitos em áreas de vulnerabilidade social e sanitária do estado do Rio de Janeiro, Brasil

4.1. 1. Salgueiro

4.1. 1. 1. Frequência de detecção dos parasitos intestinais

No Salgueiro, as amostras foram coletadas nos anos de 2018 e 2019, especificamente em uma creche municipal. Foram coletadas amostras de 87 crianças que frequentam a creche (pré-escolares) e 18 amostras de seus contactantes, dentre funcionários e outros moradores da comunidade, que aceitaram participar voluntariamente do estudo. Dentre os pré-escolares, 50 são do sexo feminino e 37 do sexo masculino. A Tabela 4.1 mostra a distribuição da frequência de crianças da creche parasitadas por sexo e idade.

Tabela 4.1. Frequência de detecção de parasitos intestinais, por sexo e idade, em indivíduos de uma creche em uma comunidade do Rio de Janeiro, Brasil (2018-2019)

SEXO	IDADE	N	EPF+	EPF-	FREQUÊNCIA
Masculino	1	09	7	2	77,8%
	2	19	7	12	36,8%
	3	8	2	6	25,0%
	4	1	0	1	0,0%
Feminino	1	11	2	9	18,2%
	2	18	8	10	44,4%
	3	17	7	10	41,2%
	4	4	3	1	75,0%
Total		87	36	51	41,4%

EPF: Exame Parasitológico de Fezes; /+/ positivo; /-/ negativo; n - número

Em 41,4% (36/87) dos pré escolares foram detectados parasitos intestinais, não sendo encontrado nenhum caso de infecção por *T. trichiura*. O monoparasitismo

foi verificado em 29,9% dos participantes (n=26), o biparasitismo em 9,2% (n=8) e o poliparasitismo em 2,3% (n=3). *G. intestinalis* foi o agente patogênico com maior frequência (16,1% 14/87). A taxa de detecção de *A. lumbricoides* foi de 11/87 (12,6%). Seis crianças tiveram o EPF positivo para o complexo *E. histolytica/dispar*. Ovos de *E. coli* foram ocasionalmente observados na amostra de duas crianças.

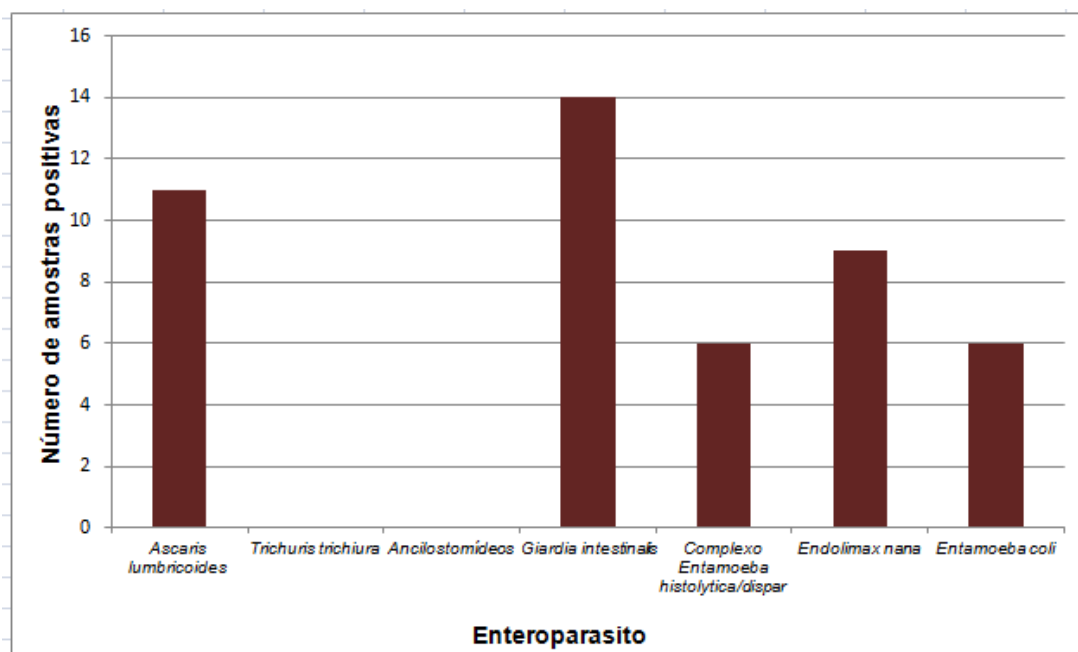


Figura 4. 1. Frequência de parasitos intestinais em 87 pré escolares de uma creche municipal, Comunidade do Salgueiro, Rio de Janeiro, Brasil (2018/2019)

4. 1. 1. 2. Percepção dos profissionais da creche sobre a problemática das parasitoses intestinais entre os pré-escolares

Dos 18 contactantes das crianças que entregaram amostras de fezes para realização do EPF, cinco eram do sexo masculino e 13 do feminino. Foram detectados parasitos intestinais em oito amostras. O monoparasitismo foi verificado em cinco indivíduos, sendo que quatro estavam parasitados por *G. intestinalis* e um com *A. lumbricoides*. Dois indivíduos estavam biparasitados, um com *G. intestinalis* e *E. coli*, e outro com *E. hystolitica/dispar* e *E. coli*.

Tabela 4.2. Frequência de detecção de parasitos intestinais em 18 indivíduos contactantes das crianças frequentadoras da creche do Salgueiro, no município do Rio de Janeiro, Brasil (2018-2019)

	Espécie	n	%
Protozoários	<i>Giardia intestinalis</i>	5	25
	<i>Complexo Entamoeba histolytica/E. dispar/</i>	1	0,5
	<i>Entamoeba coli</i>	2	15,0
	<i>Endolimax nana</i>	-	-
Helmintos	<i>Ascaris lumbricoides</i>	1	0,5
	<i>Trichuris trichiura</i>	-	-
	<i>Enterobius vermicularis</i>	-	-
	Ancilostomídeos	-	-
	<i>Hymelolepis nana</i>	-	-

n = número de casos; %: frequência de detecção

Na creche do Salgueiro, 11 profissionais aceitaram responder um questionário sobre parasitoses intestinais no seu cotidiano de trabalho.

Todos participantes referiram que nunca conversaram com profissionais de saúde sobre parasitoses intestinais. Apenas quatro profissionais relataram não ter presenciado alguma ocorrência dentro da creche relacionada às parasitoses intestinais, em especial, verminoses. Os demais profissionais revelaram ser um problema habitual na rotina de trabalho. Segue o relato dos profissionais:

“É comum as crianças terem verme aqui, a gente retira verme do bumbum delas como rotina” (P.01)

“Uma vez, uma menina do berçário colocou uma lombriga pelo nariz” (P.02)

“É comum retirar lombriga do ânus das crianças, ficam penduradas ou saem na fralda junto com as fezes” (P.03)

“Uma vez, uma aluna disse que tinha defecado na calcinha, quando verificamos, havia uma lombriga e não tinha fezes” (P.04)

“Quando vou trocar a fralda, no berçário, é comum encontrar lombriga junto as fezes” (P.05)

Os discursos narrados pelos profissionais da creche podem ser ilustrados pela figura 5 que mostra a habitualidade da presença de verminoses entre as crianças no cotidiano da troca de fraldas.



Figura 4. 2. Fralda contendo exemplares de vermes adultos de *Ascaris lumbricoides* eliminados por uma pré escolar de uma creche municipal, Comunidade do Salgueiro, Rio de Janeiro, Brasil

Em relação às estratégias educativas de prevenção às enteroparasitoses, os profissionais enfatizaram ensinar para as crianças a importância da higienização das mãos, em especial antes do consumo de alimentos. Quanto à “quimioprofilaxia”, os profissionais relataram ser necessária, mas que deveria ser feita com acompanhamento médico e após realização do exame. Entretanto, um profissional relatou que devido à dificuldade no acesso aos serviços de saúde “a população acaba tendo que tomar por conta própria”. Outra funcionária disse que é uma

recomendação do próprio profissional de saúde tomar antiparasitários uma vez ao ano.

Destaca-se que a comunidade em que está localizada a respectiva creche possui deficiências sanitárias e apresenta vulnerabilidade social em virtude, dentre outros, do tráfico de drogas ilícitas na região. Foi possível realizar em junho de 2018 uma visita na comunidade para tentar foto documentar possíveis fatores de risco associados à transmissão e perpetuação das parasitoses intestinais no público local.



Figura 4. 3. Condições ambientais impróprias identificadas na Comunidade do Salgueiro, Rio de Janeiro, Brasil, 2018. a)valas onde são despejados esgoto dos domicílios, encanamento improvisado; b) habitação com paredes de pau a pique; c) moradias com construção precária, comunidade sem pavimentação; d) presença de lixo a céu aberto nas valas de escoamento de esgoto sanitário; e) domicílios improvisados com resto de materias de construção e lonas.

Observa-se na figura 4.3 que a comunidade apresenta regiões com infraestrutura precária e deficiências no saneamento, fatores que representam risco a disseminação e manutenção dos ciclos de enteroparasitos no local. Cabe destacar que 10 amostras de cães errantes foram coletadas na comunidade, sendo duas positivas para *G. intestinalis* no exame parasitológico.

4.1. 1. 3. Diagnóstico molecular de *Giardia intestinalis*

Todas as amostras humanas, de água e de cães errantes foram testadas para os genes *Beta-giardina* e para o gene *glutamato desidrogenase*. Apenas uma amostra de cão foi positiva a partir da amplificação do gene *gdh*. Das 19 amostras humanas (pré-escolares e contactantes) positivas no EPF para *G. intestinalis*, apenas três foram positivas na PCR, sendo duas para o gene da *β-gia* e uma para o *gdh*. Ainda, 15 amostras foram positivas na PCR somente a partir da amplificação do gene *β-gia* e duas para o gene *gdh*.

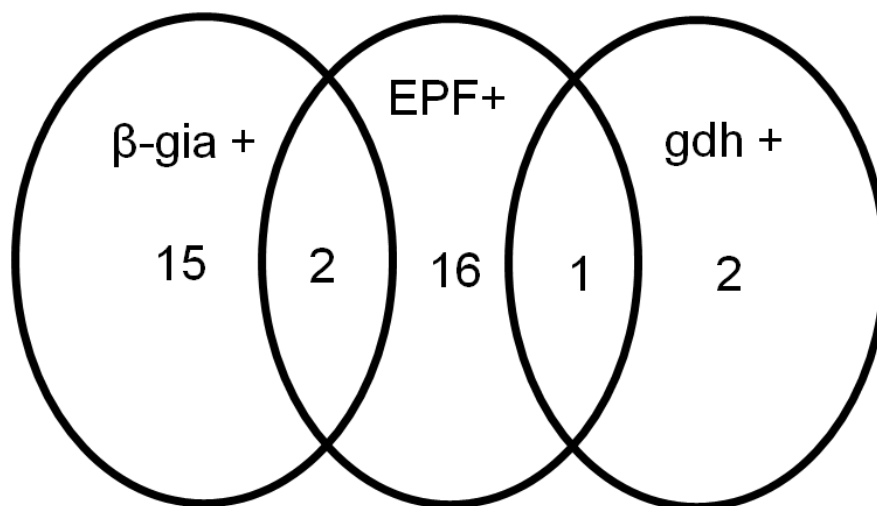


Figura 4.4. Comparação entre os resultados de detecção de *Giardia intestinalis* por identificação dos genes *Beta-giardina* (*β-gia*) e *glutamato desidrogenase* (*gdh*); e detecção de cistos pelo exame parasitológico de fezes, Comunidade do Salgueiro, Rio de Janeiro, Brasil (2018-2019)

4. 1. 2. Imbariê

4. 1. 2. 1. Frequência de detecção dos parasitos intestinais e diagnóstico molecular de *Giardia intestinalis* nas amostras humanas

Dentre os indivíduos convidados a participar do estudo, foram incluídos 462 sujeitos, que tiveram amostras fecais analisadas. As Tabelas 4.3 e 4.4 mostram a frequência de indivíduos infectados por enteroparasitos, por sexo e faixa etária.

Dentre os participantes do estudo, 274 eram do sexo feminino, 188 do sexo masculino. A maioria dos participantes tinha entre 19 e 60 anos (n=258).

Em 23,4% (108/462) dos indivíduos foram detectados parasitos intestinais. O monoparasitismo foi verificado em 84 amostras, o biparasitismo em 19 e o poliparasitismo em cinco. Protozoários intestinais foram encontrados em 75 (16,2%) amostras e geohelmintos em 41 (8,9%). *G. intestinalis* foi o parasito de maior prevalência (38/462; 8,2%). A taxa de detecção do Complexo *E. histolytica/E. dispar* foi de 16/465 (3,5%). Ovos de *A. lumbricoides* foram observados em 26 (5,6%) amostras e ovos de *T. trichiura* foram encontrados em 13 amostras (2,8%). Também foram detectados ovos de ancilostomídeos e *Hymelolepis nana*, cada um em cinco amostras (1,1%).

A infecção por *G. intestinalis* e *A. lumbricoides* foi significativamente mais frequente em indivíduos que consumiram água de poço artesiano sem filtragem.

Das 38 amostras positivas no EPF para *G. intestinalis*, nove foram positivas na PCR para o gene *gdh* e 14 para o gene da β -*gia*, conforme a Figura 4.5.

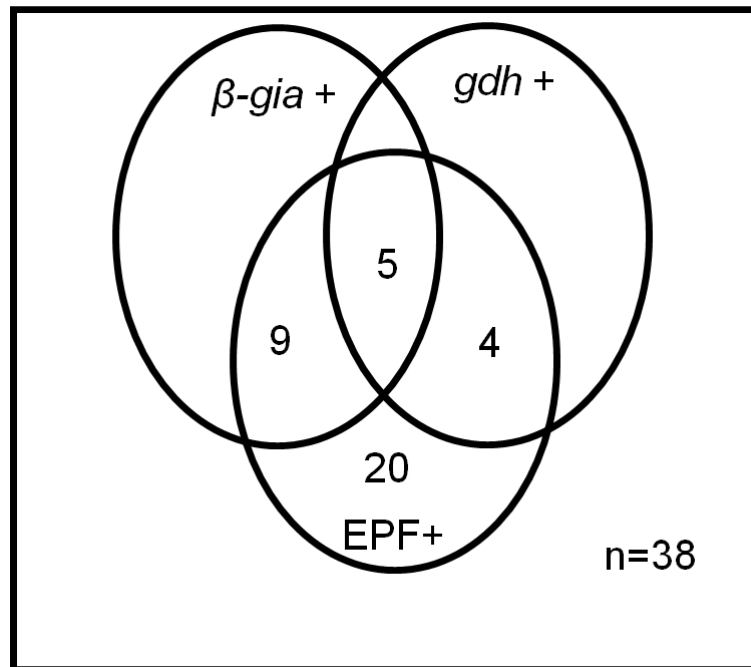


Figura 4. 5. Comparação entre os resultados de detecção de *Giardia intestinalis* por identificação dos genes *Beta-giardina* ($\beta\text{-gia}$) e *glutamato desidrogenase* (gdh); e detecção de cistos pelo exame parasitológico de fezes, Imbariê, Rio de Janeiro, Brasil (2018-2019)

Tabela 4.3. Frequência de detecção de protozoários intestinais e fatores associados em indivíduos atendidos em uma Unidade Básica de Saúde, no município de Duque de Caxias, Rio de Janeiro, Brasil (2018-2019)

Gênero	Qualquer protozoário			<i>Giardia intestinalis</i>			<i>Entamoeba histolytica/E. dispar</i>			<i>Entamoeba coli</i>			<i>Endolimax nana</i>			
	Positivity	PR*	p-value	Positivity	PR*	p-value	Positivity	RP*	p-value	Positivity	PR*	p-value	Positivity	PR*	p-value	
Masculino	30/188 (16,0%)	1		18/188 (9,6%)	1.31 (0.71-2.41)	0.393	6/188 (3,2%)	1		4/188 (2,1%)	1		7/188 (3,7%)	1		
Feminino	45/274 (16,4%)	1.02 (0.67-157)	1.00	20/274 (7,3%)	1		10/274 (3,6%)	1.14 (0.42-3.09)	1.00	12/274 (4,4%)	2.05 (0.67-6.28)	0.300	11/274 (4,0%)	1.07 (0.42-2.73)	1.00	
Faixa etária (anos)																
0-4	5/40 (12,5%)	2.89 (0.31-2.52)	1.00	3/40 (7,5%)	2.13 (0.37-12.2)	0.400	1/40 (2,5%)	1.42 (0.09-22.11)	1.00	0/40 (0,0%)	undefined	0.140	1/40 (2,5%)	1.42 (0.09-22.11)	1.00	
5-14	19/91 (20,9%)	1.48 (0.69-3.17)	0.382	11/91 (12,1%)	3.44 (0.79-4.98)	0.082	3/91 (3,3%)	1.87 (0.20-17.63)	1.00	3/91 (3,3%)	0.46 (0.10-2.02)	0.429	5/91 (5,5%)	3.13 (0.37-26.12)	0.406	
15-18	3/26 (11,5%)	0.82 (0.23-2.85)	1.00	2/26 (7,7%)	2.19(0.32-14.72)	0.586	2/26 (7,7%)	4.38 (0.41-46.21)	0.229	1/126 (3,8%)	0.54 (0.06-4.66)	1.00	1/26 (3,8%)	2.19 (0.14-33.70)	0.531	
19-60	40/248 (16,1%)	1.14 (0.56-2.31)	0.840	20/248 (8,1%)	2.29 (0.55-9.55)	0.391	9/248 (3,6%)	2.06 (0.26-16.00)	0.694	2/248 (3,2%)	0.45 (0.14-1.47)	0.247	10/248 (4,0%)	2.29 (0.30-17.59)	0.696	
>60	8/57 (14%)	1		2/57 (3,5%)	1		1/57 (1,8%)	1		4/57 (7,0%)	1		1/57 (1,8%)	1		
Escolaridade																
Ensino fundamental	51/248 (20,6%)	1		31/248 (12,5%)	1		11/248 (4,4%)	1		9/248 (3,6%)	1		9/248 (3,6%)	1		
Ensino médio-superior	14/93 (15,1%)	0.73 (0.42-1.25)	0.281	7/93 (7,5%)	0.60 (0.27-1.31)	0.247	3/93 (3,2%)	0.72 (0.20-2.54)	0.765	4/93 (4,3%)	1.85 (0.37-3.75)	0.756	4/93 (4,3%)	1.85 (0.37-3.75)	0.756	
pobreza**																
Sim	23/128 (18,0%)	1		14/128 (10,9%)	1		3/128 (2,3%)	1		3/128 (2,3%)	1		7/128 (5,5%)	1		
Não	42/213 (19,7%)	1.09 (0.69-1.73)	0.776	24/213 (11,3%)	1.03 (0.55-1.91)	1.000	11/213 (5,2%)	2.20 (0.62-7.74)	0.265	10/213 (4,7%)	2.00 (0.56-7.14)	0.384	6/213 (2,8%)	0.51 (0.17-1.49)	0.248	
Number of residents																
<4	50/246 (20,3%)	1.28 (0.76-2.17)	0.361	28/246 (11,4%)	1.08 (0.54-2.13)	1.00	10/246 (4,1%)	0.96 (0.31-3.00)	1.00	12/246 (4,9%)	4.63 (0.61-35.15)	0.121	12/246 (4,9%)	4.63 (0.61-35.15)	0.121	
≥5	15/95 (15,8%)	1		10/95 (10,5%)	1		4/95 (4,4%)	1		1/95 (1,0%)	1		1/95 (1,0%)	1		
Piso do domicílio																
Revestido	29/197 (14,7%)	1		17/197 (8,6%)	1		7/197 (3,6%)	1		7/197 (3,6%)	1		2/197(1,0%)	1		
Não revestido	36/144 (25,0%)	1.69 (1.09-2.63)	0.018	21/144 (14,6%)	1.69 (0.92-3.08)	0.115	7/144 (4,9%)	1.36 (0.49-3.81)	0.588	6/144 (4,2%)	1.17 (0.40-3.41)	0.781	11/144 (7,6%)	7.52 (1.69-33.42)	0.002	
Água para beber																
Poço artesiano	36/146 (24,7%)	1.56 (0.93-2.63)	0.088	24/146 (16,4%)	2.95 (1.25-6.98)	0.009	3/146 (2,1%)	0.44 (0.10-1.81)	0.290	9/146 (6,2%)	2.21 (0.61-8.00)	0.246	9/146 (6,2%)	2.21 (0.61-8.00)	0.246	
Galão comprado	12/87 (13,8%)	0.87 (0.44-1.73)	0.840	8/87 (9,2%)	1.65 (0.57-4.59)	0.406	6/87 (6,9%)	1.48 (0.47-4.71)	0.544	1/87 (1,1%)	0.41 (0.04-3.90)	0.629	1/87 (1,1%)	0.41 (0.04-3.90)	0.629	
Companhia de abastecimento	17/108 (15,7%)	1		6/108 (5,6%)	1		5/108 (4,6%)	1		3/108 (2,8%)	1		3/108 (2,8%)	1		
Destino das Fezes																
Vala	3/15 (20%)	1.00 (0.31-3.13)	1.000	2/15 (13,3%)	3.66 (0.56-23.9)	0.198	0/15 (0,0%)	undefined	1.00	1/15 (6,7%)	0.91 (0.11-7.60)	1.00	0/15 (0,0%)	undefined	0.328	
Fossa séptica	11/55 (20%)	1		2/55 (3,6%)	1		1/55 (1,8%)	1		4/55 (7,3%)	1		6/55 (10,9%)	1		
Esgoto	51/27 (18,8%)	0.94 (0.52-1.68)	0.851	34/271 (12,5%)	3.45 (0.85-13.94)	0.059	13/271 (4,8%)	2.63 (0.35-19.75)	0.478	8/271 (3,0%)	0.40 (0.12-1.30)	0.125	7/271 (2,6%)	0.23 (0.08-0.67)	0.011	
Animal no domicílio																
Não	12/74 (16,2%)	1		7/74 (9,5%)	1		3/74 (4,1%)	1		1/74 (1,4%)	1		4/74 (5,4%)	1		
Sim	53/267 (19,9%)	1.22 (0.69-2.16)	0.615	31/267 (11,6%)	1.22 (0.56-2.67)		11/267 (4,1%)	1.01 (0.29-3.54)	1.00	12/267 (4,5%)	3.32 (0.43-25.16)	0.312	9/267 (3,4%)	0.62 (0.19-1.96)	0.490	
Uso de antiparasitários																
Sim	6/48 (12,5%)	1		4/48 (8,3%)	1		2/48 (4,2%)	1		2/48 (4,2%)	1		1/48 (2,1%)	1		
Não	59/293 (20,1%)	1.61 (0.73-3.52)	0.240	34/293 (11,6%)	1.39 (0.51-3.74)	0.626	12/293 (4,1%)	0.98 (0.22-4.25)	1.00	11/293 (3,8%)	90 (0.20-3.94)	1.00	12/293 (4,1%)	1.96 (0.26-14.77)	1.00	
Manejo da água																
Poço artesiano e filtra	10/81 (12,3%)	1		3/81 (3,7%)	1		0/81 (0,0%)	1		5/81 (6,2%)	1		6/81 (7,4%)	1		
Poço artesiano e não filtra	26/65 (40,0%)	3.24 (1.68-6.22)	<0.001	21/65 (32,3%)	8.7 (2.72-27.96)	<0.001	3/65 (4,6%)	undefined	0.085	4/65 (6,2%)	0.99 (0.27-3.56)	1.00	3/65 (4,6%)	0.623 (0.16-2.39)	0.731	
Galão comprado	12/87 (13,8%)	1.11 (0.51-2.44)	0.822	8/87 (9,2%)	2.48 (0.68-9.03)	0.214	6/87 (6,9%)	undefined	0.029	1/87 (1,1%)	0.18 (0.02-1.56)	0.107	1/87 (1,1%)	0.15 (0.01-1.26)	0.056	
Companhia de abastecimento e filtra	4/25 (16,0%)	1.29 (0.44-3.77)	0.736	1/25 (4,0%)	1.08 (0.11-9.92)	1.000	1/25 (4,0%)	undefined	0.235	0/25 (0,0%)	undefined	0.589	2/25 (8,0%)	1.08 (0.23-5.01)	1.00	
Companhia de abastecimento e não filtra	13/83 (15,7%)	1.26 (0.59-2.72)	0.654	5/83 (6,0%)	1.62 (0.40-6.58)	0.719	4/83 (4,8%)	undefined	0.120	3/83 (3,6%)	0.585 (0.14-2.37)	0.492	1/83 (1,2%)	0.162 (0.02-1.32)	0.062	

PR=Prevalence ratio. *95% CI. ** MPCHI < 249.00 BRL per capita.

Tabela 4.4. Frequência de detecção de helmintos intestinais e fatores associados em indivíduos atendidos em uma Unidade Básica de Saúde, no município de Duque de Caxias, Rio de Janeiro, Brasil (2018-2019)

Gênero	Qualquer helminto			<i>Ascaris lumbricoides</i>			<i>Trichuris trichiura</i>			Ancilostomídeos		
	Positividade	RP*	p-value	Positividade	RP*	p-value	Positividade	PR*	p-value	Positividade	RP*	p-value
Masculino	17/188 (9.0%)	1		9/188 (4.8%)	1		9/188 (4.8%)	1		2/188 (1.1%)	1	
Feminino	24/274 (8.8%)	0.96 (0.53-1.75)	1.00	17/274 (6.2%)	1.29 (0.59-2.84)	0.546	4/274 (1.5%)	0.30 (0.09-0.97)	0.044	3/274 (1.1%)	1.02 (0.17-6.2)	1.00
Faixa etária (anos)												
0-4	2/40 (5.0%)	1		2/40 (5.0%)	1		0/40 (0.0%)	undefined	0.151	0/40 (0.0%)	undefined	1.00
5-14	12/91 (13.2%)	2.63 (0.61-11.24)	0.225	5/91 (5.5%)	1.09 (0.22-5.42%)	1.00	8/91 (8.8%)	1.14 (0.25-5.05)	1.00	0/91 (0.0%)	Undefined	0.577
15-18	3/26 (11.5%)	2.30 (0.41-12.88)	0.374	1/26 (3.8%)	0.76 (0.07-8.05%)	1.00	2/26 (7.7%)	1		0/26 (0.0%)	undefined	1.00
19-60	19/248 (7.7%)	1.53 (0.37-6.32)	0.749	15/248 (6.0%)	1.20 (0.28-5.09)	1.00	2/248 (0.8%)	0.10 (0.01-0.713)	0.046	4/248 (1.6%)	1	
>60	5/57 (8.8%)	1.75 (0.35-8.59)	0.696	3/57 (5.3%)	1.05 (0.18-6.01)	1.00	1/57 (1.8%)	0.22 (0.02-2.40)	0.229	1/57 (1.8%)	1.08 (0.12-9.54)	1.00
Escolaridade												
Ensino fundamental	23/248 (9.3%)	1		13/248 (5.2%)	1		10/248 (4.0%)	1		1/248 (0.4%)	1	
Ensino médio-superior	15/93 (16.1%)	1.73 (0.94-3.18)	0.083	13/93 (14.0%)	2.66 (1.28-5.53)	0.010	1/93 (1.1%)	0.26 (0.03-2.05)	0.300	3/93 (3.2%)	8.00 (0.84-75.94)	0.063
pobreza**												
Sim	15/128 (11.7%)	1		6/128 (4.7%)	1		7/128 (5.5%)	1		2/128 (1.6%)	1	
Não	23/213 (10.8%)	0.92 (0.49-1.70)	0.859	20/213 (9.4%)	2.00 (0.82-4.800)	0.141	4/213 (1.9%)	0.34 (0.10-1.15)	0.109	2/213 (0.9%)	0.600 (0.08-4.21)	0.632
Number of residents												
<4	32/246 (13.0%)	1		23/246 (9.3%)	1		8/246 (3.2%)	1		4/246 (1.6%)	1	
≥5	6/95 (6.3%)	0.48 (0.209-1.12)	0.086	3/95 (3.1%)	0.33 (0.10-1.09)	0.067	3/95 (3.1%)	0.97 (0.26-3.58)	1.00	0/95 (0.0%)	undefined	0.579
Piso do domicílio												
Revestido	16/197 (8.1%)	1		15/197 (7.6%)	1		2/197 (1.0%)	1		2/197 (1.0%)	1	
Não revestido	22/144 (15.3%)	1.88 (1.02-3.45)	0.054	11/144 (7.6%)	1.00 (0.47-2.11)	1.00	9/144 (6.2%)	6.15 (1.35-28.06)	0.010	2/144 (1.4%)	1.36 (0.19-9.59)	1.00
Água para beber												
Poço artesiano	23/146 (15.8%)	1		13/146 (8.9%)	1		10/146 (6.8%)	1		2/146 (1.4%)	1	
Galão comprado	7/87 (8.0%)	0.51 (0.22-1.14)	0.107	6/87 (6.9%)	0.77 (0.30-1.96)	0.805	0/87 (0.0%)	undefined	0.014	2/87 (2.3%)	1.67 (0.24-11.70)	0.630
Companhia de abastecimento	8/108 (7.4%)	0.47 (0.21-1.01)	0.052	7/108 (6.5%)	0.72 (0.30-1.76)	0.638	1/108 (0.9%)	0.135 (0.01-1.04)	0.026	0/108 (0.0%)	Undefined	0.509
Destino das Fezes												
Vala	2/15 (13.3%)	1.29 (0.33-4.91)	0.662	1/15 (6.7%)	0.78 (0.11-5.43)	1.00	1/15(6.7%)	4.51 (0.53-37.96)	0.237	0/15 (0.0%)	Undefined	1.00
Fossa séptica	8/55 (14.5%)	1.40 (0.67-292)	0.350	2/55 (3.6%)	0.42 (0.10-1.76)	0.276	6/55 (10.9%)	7.39 (2.15-25.32)	0.002	0/55 (0.0%)	Undefined	1.00
Esgoto	28/271 (10.3%)	1		23/271 (8.5%)	1		4/271 (1.5%)	1		4/271 (1.5%)	1	
Animal no domicílio												
Não	34/267 (2.7%)	2.35 (0.86-6.42)	0.094	22/267 (8.2%)	1.52 (0.54-428)	0.620	11/267 (4.1%)	Undefined	0.130	4/267 (1.5%)	Undefined	0.580
Sim	4/74 (5.4%)	1		4/74 (5.4%)	1		0/74 (0.0%)	1		0/74 (0.0%)	1	
Uso de antiparasitários												
Sim	2/48 (4.2%)	1		2/48 (4.2%)	1		0/48 (0.0%)	1		0/48 (0.0%)	1	
Não	36/293 (12.3%)	2.94 (0.73-11.84)	0.135	24/293 (8.2%)	1.96 (0.58-8.05)	0.555	11/293 (3.7%)	undefined	0.372	4/293 (1.4%)	undefined	1.00
Manejo da água												
Poço artesiano e filtra	9/81 (11.1%)	0.51 (0.23-1.11)	0.110	1/81 (1.2%)	0.06 (0.008-0.50)	<0.001	7/81 (8.6%)	1.87 (0.50-6.95)	0.512	1/81 (1.2%)	0.802 (0.05-1258)	1.00
Poço artesiano e não filtra	14/65 (21.5%)	1		12/65 (18.5%)	1		3/65 (4.6%)	1		1/65 (1.5%)	1	
Galão comprado	7/87 (8.0%)	0.37 (0.15-0.872)	0.030	6/87 (6.9%)	0.37 (0.148-0.942)	0.041	0/87 (0.0%)	Undefined	0.076	2/87 (2.3%)	1.49 (0.13-16.12)	1.00
Companhia de abastecimento e filtra	2/25 (8.0%)	0.37 (0.09-1.51)	0.217	2/25 (8.0%)	0.43 (0.104-1.80)	0.333	0/25 (0.0%)	Undefined	0.557	0/25 (0.0%)	undefined	1.00
Companhia de abastecimento e não filtra	6/83 (7.2%)	0.33 (0.13-0.285)	0.015	5/83 (6.0%)	0.32 (0.121-0.879)	0.035	1/83 (1.2%)	0.26 (0.02-2.45)	0.319	0/83 (0.0%)	undefined	0.439

RP=Razão de prevalência. *95% CI. ** MPCHI <R\$249,00 per capita.

4. 1. 2. 2. Detecção de parasitos intestinais e diagnóstico molecular de *Giardia intestinalis* nas amostras ambientais

Na comunidade foram coletadas 34 amostras de cães errantes do peridomicílio dos indivíduos participantes do estudo. *G. intestinalis*, ancilostomídeos e *Toxocara canis* foram encontrados em quatro amostras. *Trichuris* sp. foi detectado em duas amostras (Figura 4.6).

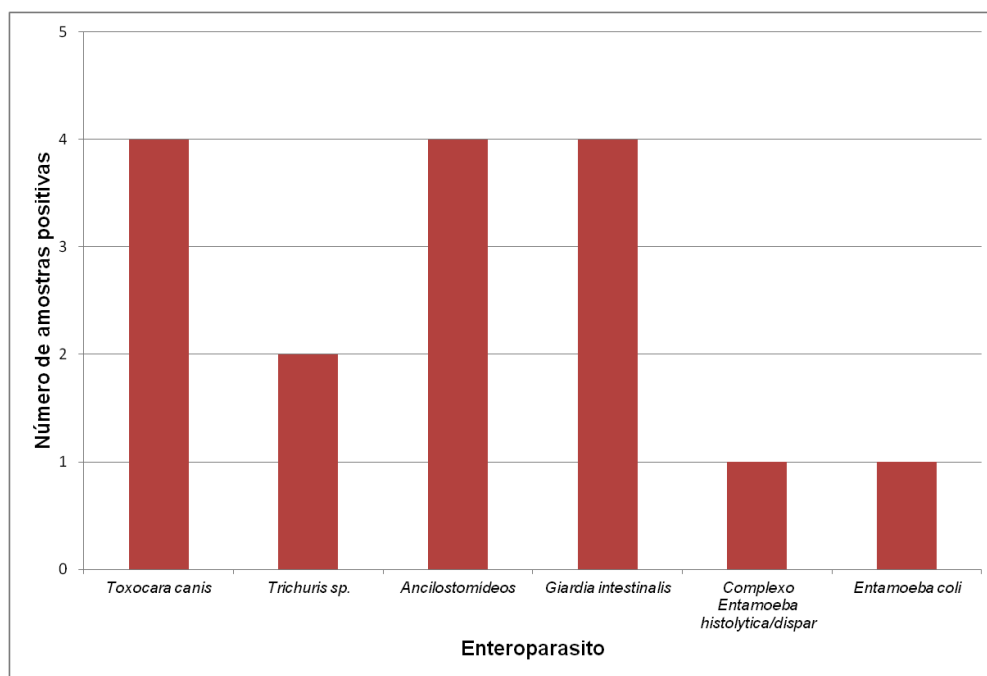


Figura 4. 6. Frequência de parasitos intestinais em 34 cães errantes de Imbariê, Duque de Caxias, Rio de Janeiro, Brasil (2018/2019)

Na análise por biologia molecular, das 22 amostras de água coletadas, duas foram positivas na PCR para o gene *gdh*. Ainda, uma amostra de cão também foi positiva na PCR para o mesmo gene.

4. 1. 2. 3. Diagnóstico molecular de *Cryptosporium* spp.

Foram encontradas duas amostras positivas dentre 131 sujeitos analisados. Estas foram caracterizadas como *Cryptosporidium parvum*, genótipo humano por meio da técnica de PCR e caracterização por RFLP. Cabe destacar que os infectados eram duas crianças de 10 e 8 anos de idade, do sexo feminino e masculino respectivamente, sendo este último coinfestado por *G. intestinalis*, *T. trichiura*, *E. nana* e *E. coli*.

4. 1. 2. 4. Percepção dos moradores sobre a problemática das parasitoses intestinais na comunidade

Em sua grande maioria os moradores relataram que os profissionais de saúde conversam pouco com eles sobre parasitoses intestinais e que as conversas são restritas aos sinais e sintomas das infecções. Quando falam sobre o uso de medicamentos para enteroparasitoses, os profissionais apenas expõem que há necessidade de se tomar uma vez por ano antiparasitários para prevenir as infecções e praticamente não discutem outras medidas para doenças. Esses resultados podem ser observados no discurso dos moradores:

"Não. Geralmente a conversa é sobre a necessidade de tomar remédio uma vez por ano para prevenir essas doenças."

"Sim, que causa diarreia, vômito, enjoo."

"Sim. Que pode causar perda de peso nas crianças. Aí a gente tem que comprar remédio para dar a elas."

"Não. Mas quando a criança sente dores na barriga e fica inchada, eu levo ela no posto e eles me dão remédio para verme."

"Sim. Fala para gente lavar os alimentos, para as crianças não comerem tanto doce e tomar remédio sempre."

Quanto às experiências com parasitoses intestinais na comunidade, os discursos envolvem sintomas e a eliminação de *A. lumbricoides*, mas ainda com discursos vinculados ao tratamento.

"Minha filha ficou com um verme preso na garganta."

"Meu neto estava com a barriga doendo e diarreia. Demos o remédio e ai ele melhorou."

"Uma vez vi uma criança com fortes dores na barriga. Ela colocou muitos vermes para fora. Foi preciso ela ir às pressas para o hospital."

"Já vi o filho da minha vizinha botar muito verme para fora, mas graças a Deus ele ficou bom depois."

"Sim. Em 2015 fizemos um trabalho de conscientização nas escolas, onde oferecemos a medicação para os alunos" (Agente Comunitário de Saúde)

4. 2. A giardíase altera os níveis de proteína ligante de ácidos graxos intestinais (I-FABP) e de citocinas plasmáticas em crianças no Brasil

Desta-se aqui que os resultados dessa seção estão publicados na revista *Pathogens* com o título: "Giardiasis Alters Intestinal Fatty Acid Binding Protein (I-FABP) and Plasma Cytokines Levels in Children in Brazil". (Apêndice 3).

4. 2. 1. Perfil clínico e hematológico das crianças com giardíase

Por meio desse estudo foram identificadas 19 crianças infectadas por *G. intestinalis* e 12 sem evidências laboratoriais de parasitoses intestinais. Os

genótipos de *G. intestinalis* identificados nas amostras foram A (n = 11), B (n = 6) e E (n = 2).

A alteração da consistência normal das fezes foi uma ocorrência frequente entre as crianças da creche. Assim, nenhuma associação entre diarreia e infecção por *G. intestinalis* foi estabelecida. Os estados antropométricos das crianças, avaliados de acordo com os escores Z da OMS (comprimento para idade, peso para idade e peso para comprimento), mostraram que 28 das 31 crianças eram eutróficas, e apenas duas delas apresentavam baixo peso.

Os níveis médios de hemoglobina nos pré-escolares infectados [11,50 g / dL (11,10-12,20 g / dL)] foram semelhantes aos não infectados [11,90 g / dL (11,28-12,53 g / dL)]. Apenas uma criança não infectada apresentou anemia moderada. Resultados semelhantes foram observados para os outros parâmetros hematológicos relacionados à anemia.

Na investigação da influência de *G. intestinalis* nas células do sistema imunológico, a avaliação dos perfis de leucócitos não demonstrou diferenças para contagens de linfócitos, neutrófilos ou monócitos entre os infectados e os sadios. Sete das 19 crianças com giardíase apresentaram contagens de eosinófilos levemente aumentadas, e quatro em de 12 crianças não infectadas apresentaram aumentos leves ou moderados ($p = 0,80$).

Tabela 4.5. Dados demográficos e exames hematológicos de pré-escolares infectados e não infectados por *G. intestinalis*, Salgueiro, 2015

Parâmetros Analisados		Pré-escolares	
		<i>Giardia</i> Positivo	<i>Giardia</i> Negativo
Idade	(Meses) Intervalo mediano de QI	27,9 [25,5-31,7]	36,2 [29,6-41,2]
Gênero	Masculino	9	2
	Feminino	10	10
Hemoglobina	Normal	15	10
	Leve (10–10,9 g / dL)	4	1
	Moderado (7–9,9 g / dL)	0	1
	Grave (<7 g / dL)	0	0
Eosinófilos	Normal (<500 células / mm ³)	11	8
	Leve (501–1500 células / mm ³)	7	2
	Moderado (1501–5000 células / mm ³)	1	2
	Grave (> 5000 células / mm ³)	0	0
Neutrófilos	Normal (1600-7150 células / mm ³)	18	12
	Aumentado (> 7151 células / mm ³)	1	0
Monócitos	Normal (80-1100 células / mm ³)	15	10
	Aumentado (> 1101 células / mm ³)	4	2
Linfócitos	Normal (880-4950 células / mm ³)	14	8
	Aumentado (> 4951 células / mm ³)	5	4

4. 2. 2. Perfis de citocinas plasmáticas de pré-escolares infectados por *Giardia intestinalis*

Os níveis plasmáticos de 15 citocinas ou quimiocinas foram quantificados (Apêndice 6). Comparado aos pré-escolares não infectados (n = 8), os indivíduos com giardíase (n = 17) apresentaram níveis significativamente mais baixos de IL-8 ($p= 0,003$). O grupo de crianças infectadas também apresentou tendência a níveis mais elevados de IL-17 ($p=0,09$) e IL-10 ($p=0,08$) e os níveis de IL-17 foram significativamente diferentes ($p=0,047$, teste *t* de Student). Nenhuma diferença nos níveis de IFN- γ foi observada entre os dois grupos, mas as razões IFN- γ /IL-10 também foram significativamente menores ($p <0,05$) no grupo infectados em comparação aos não infectados (Figura 4.7).

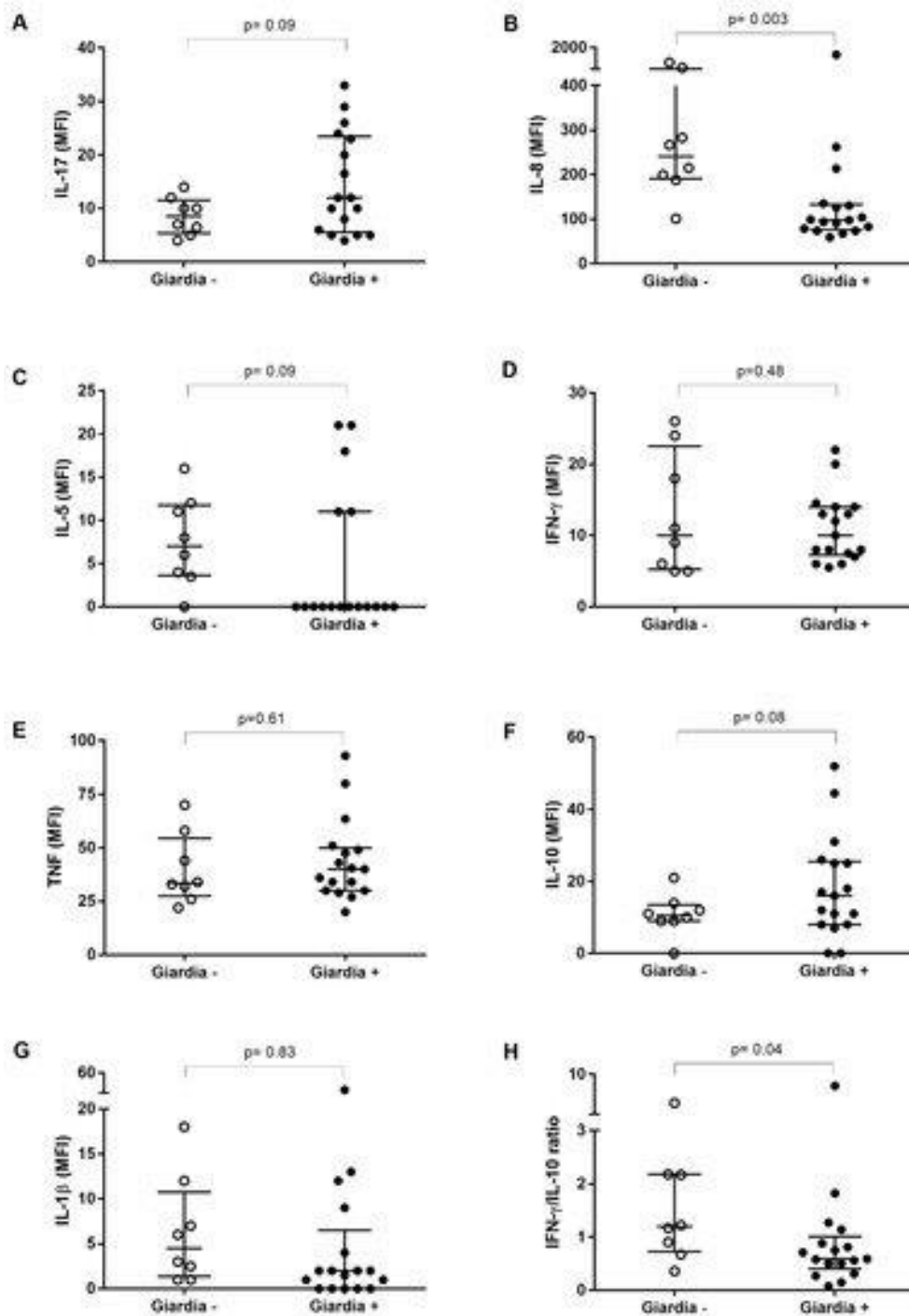


Figura 4. 7. Perfis de citocinas de crianças infectadas com *Giardia intestinalis* no Salgueiro (2015). Níveis plasmáticos de (A) IL-17, (B) IL-8, (C) IL-5, (D) IFN- γ , (E) TNF, (F) IL-10 e (G) IL-1 β em crianças com giardíase foram determinadas usando esferas Luminex. A razão IFN- γ /IL-10 (H) também é mostrada. Cada ponto corresponde a um indivíduo. Os resultados são expressos em intensidade mediana de fluorescência (MFI). São apresentadas medianas (barras horizontais), quartis (intervalo 25–75%) e resultados dos testes estatísticos de Mann-Whitney.

4. 2. 3. Níveis de proteína de ligação aos ácidos graxos intestinais (I-FABP) em crianças infectadas com *Giardia intestinalis*

Os níveis de I-FABP estavam aumentados nas crianças com giardiase. Os pré-escolares infectados apresentaram níveis de I-FABP significativamente mais elevados (1274 pg/mL (622–2004 pg/mL); n=17) do que crianças negativas para giardia [741 pg/mL (422–960 pg/mL); n= 2; $p=0,05$] (Figura 4. 8).

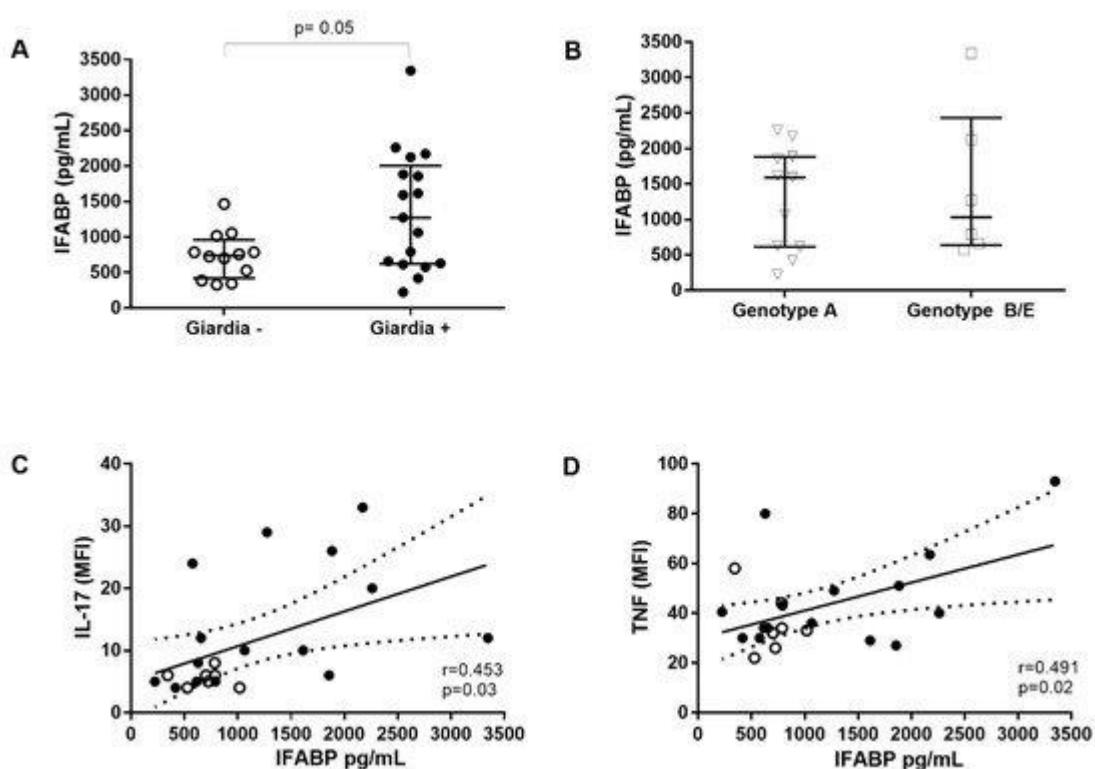


Figura 4. 8. Níveis de proteína ligante de ácidos graxos intestinais (I-FABP) e correlação com perfis de citocinas sistêmicas e genótipos de *Giardia* em crianças infectadas no Salgueiro, 2015.(A) Os níveis de I-FABP estão aumentados em crianças em idade pré-escolar infectadas com *G. intestinalis*. (B) Genótipos diferentes de *Giardia* (A, B ou E) de *G. intestinalis* não estão associadas aos níveis de I-FABP. (C) Correlação entre I-FABP e níveis de IL-17 ou (D)TNF. Os níveis de I-FABP foram elevados em indivíduos positivos para *Giardia*(●) em comparação com os não infectados (○). As barras horizontais indicam os valores medianos e as barras verticais indicam os intervalos interquartil (25–75%).

Não houve diferença nos níveis de I-FABP comparando crianças infectadas por genótipo A (1591 pg/mL (615-1882 pg/mL); n=11) ou genótipo B e E (1032 pg/mL (637-2431 pg/mL); n=6) (Figura 4. 8).

Foi observada correlação positiva entre os níveis de I-FABP e IL-17 ($r=0,453$; $p < 0,03$), bem como TNF ($r=0,49$; $p < 0,02$) (Figura 4. 8). Quatro crianças infectadas apresentaram níveis de I-FABP superiores a 2.000 pg/mL, embora nenhuma característica clínica pudesse ser associada a esses níveis elevados de I-FABP.

Considerando a alta variação observada entre todos os parâmetros analisados, foram investigados quais fatores estavam influenciando os níveis elevados de I-FABP por meio de uma análise de regressão linear multivariada. O modelo mostrou uma tendência de que a infecção por *Giardia* influenciou os níveis de I-FABP ($p=0,071$) (Tabela 4.6), corroborando uma associação entre lesão de enterócitos e giardíase. Essa correlação foi independente dos níveis de citocinas.

Tabela 4.6. Análise de regressão linear multivariada para avaliar a associação entre os níveis de proteína de ligação aos ácidos graxos intestinais (I-FABP) e variáveis independentes (citocinas) em pré-escolares positivos para *Giardia*

Variáveis independentes	Níveis de variável dependente I-FABP (pg/mL)		
	Coef ¹	SE ²	P
Infecção por <i>Giardia</i> (positiva ou negativa)	0,396	321,88	0,071
IL-17 *	0,227	18,86	0,349
TNF *	0,437	9,80	0,135
IL-8 *	-0,045	0,55	0,833
IL-10 *	-0,341	14,29	0,215

1 Coef — Coeficiente de correlação; 2 SE - erro padrão; * MFI - intensidade mediana de fluorescência; IL — interleucina, TNF — fator de necrose tumoral, I-FABP — proteína de ligação aos ácidos graxos intestinais.

5. DISCUSSÃO

5. 1. Estudo socioambiental da infecção por enteroparasitos em áreas de vulnerabilidade social e sanitária do estado do Rio de Janeiro, Brasil

5.1. 1. Salgueiro

5.1. 1. 1. Frequência de detecção dos parasitos intestinais

A frequência (41,4%) de parasitoses intestinais encontrada nas crianças que frequentam a creche do Salgueiro foi menor do que a encontrada em estudo semelhante realizado no período de 2014-2015, onde *G. intestinalis* também foi o agente patogênico mais frequente (Fantinatti et al. 2016).

Estudo de Calegar et al. (2020) realizado em áreas periurbanas no Rio de Janeiro encontrou uma prevalência de 8.6% (n=41) para giardíase, apontando que a infecção estava relacionada à pobreza e ao número de habitantes no domicílio. Assim, a giardíase pode ser uma condição oculta e prevalente em comunidades com condições precárias de saneamento e vulnerabilidade social.

A. lumbricoides também foi detectado nas amostras analisadas com uma frequência de 11,9% que está dentro das estimativas nacionais que variam de 2-36% (Brasil, 2017). Ressalta-se que nenhum caso de infecção por *Trichuris trichiura* foi encontrado. Esse dado corrobora o resultado de outros estudos transversais apontando para uma mudança no perfil de transmissão das parasitoses intestinais no Brasil. As taxas de infecções por protozoários intestinais parecem aumentar devido ao negligenciamento em suas abordagens de controle e as taxas de infecções por geohelmintos tendem a diminuir por meio do "tratamento profilático" (Macchioni et al. 2015, Dunn et al. 2019, Calegar et al. 2020).

Entretanto, cabe destacar que a vigilância da abordagem "quimioprofilática" é essencial para monitorar casos de reinfecções e de resistência parasitária. Uma vez que sem perspectivas de mudança das condições socioambientais os indivíduos viverão uma condição de tratamento-cura-reinfecção (Prieto-Pérez et al. 2016, Zuccherato et al. 2018, Dunn et al. 2019).

Corroboram nesse sentido, Frei, Juncasen e Ribeiro (2009) afirmando que a "quimioprofilaxia" pode mascarar as condições sanitárias deficientes e, na verdade, a baixa prevalência de parasitos intestinais seria decorrente de tratamentos reiterados e não pela promoção da saúde.

Assim, os dados encontrados nesse estudo podem estar subestimados pela prática quimioterápica indiscriminada decorrente do tratamento cego das enteroparasitoses que é incorporado na maioria das rotinas dos serviços de saúde. Portanto, as ações ambientais, como melhoria dos serviços sanitários com distribuição regular e com qualidade de água, coleta regular de lixo, pavimentação e melhoria do acesso aos serviços de saúde são ações necessárias ao controle das enteroparasitoses (Macedo et al. 2010).

5.1. 1. 2. Percepção dos profissionais da creche sobre a problemática das parasitoses intestinais entre os pré-escolares

A detecção de parasitos intestinais, como *G. intestinalis* aponta que a infecção pode estar ocorrendo pelo contato direto com as crianças. Pelos discursos dos profissionais na creche é possível observar a habitualidade e com que os pré-escolares elimina vermes adultos de *A. lumbricoides* nas fraldas. Essa observação corrobora a recomendação de Fontes et al. (2017) sobre a necessidade de medidas preventivas dentro dos espaços educativos infantis, devido a alta taxa de distribuição de ovos desse parasito nesses ambientes.

Cabe destacar que vermes adultos de *A. lumbricoides* podem chegar a 40cm de comprimento e os pré-escolares têm entre um e quatro anos de idade, menos de

um metro de comprimento em sua maioria. Como ilustrado na fralda de uma criança da comunidade, a simples medicalização pode ser uma abordagem incongruente com a realidade da infecção na localidade, levando-se em consideração a alta carga parasitária e a possível evolução para um quadro de oclusão intestinal ou abdômen agudo, manifestações clínicas severas da ascariase que necessita de abordagem cirúrgica e pode resultar em casos fatais.

É muito difícil pensar, em pleno século XXI, nessa realidade dentro de uma grande metrópole brasileira como o Rio de Janeiro, salientando-se que a comunidade de estudo fica há poucos metros de um grande centro urbano e econômico, realidade essa que traduz as diferenças das mazelas sociais entre a "favela" e o "asfalto", traduzida aqui, simplesmente, como "vulnerabilidade".

Silva et. al (2016) chama atenção para associação das parasitoses intestinais à pobreza generalizada como um problema social relevante e que a garantia da qualidade de vida das populações vulneráveis perpassa a efetivação de políticas públicas efetivas direcionadas ao saneamento.

Nesse cenário, os profissionais relataram duas problemáticas da abordagem das parasitoses intestinais pelo sistema de saúde público: a dificuldade no acesso aos serviços e a própria recomendação do profissional de saúde que abordam os casos. Ou seja, o que a população pode fazer se não consegue atendimento ou se quando consegue, esse atendimento é deficitário e desprovido de abordagens coerente com a realidade local?

Ao analisar a percepção dos usuários sobre o acesso universal aos serviços de saúde no SUS, com vistas a discutir o princípio de universalidade, Ponte et al. 2009 corroboram a situação de insatisfação do usuários com o sistema público de saúde brasileiro:

a insatisfação dos usuários com relação ao tempo exigido para o acesso aos serviços oferecidos pelo SUS, que se expressa na demora para conseguir os atendimentos, na necessidade de buscar atendimentos em serviços distantes da residência, nas dificuldades relacionadas aos recursos humanos e materiais e, ainda, no questionamento da efetividade das ações

de referência e de contrarreferência desenvolvidas. Essa demora é explicada a partir de uma lógica simples de causalidade, como resultado do excesso de pessoas e de demandas, dificultando o atendimento (Pontes et al. 2009, pp.502).

Nessa seara, críticas são feitas ao Programa de Controle das Parasitoses Intestinais (Brasil, 2005). Como já mencionado, Moraes-Neto et al. (2010) aponta a omissão flagrante do governo brasileiro com as populações mais atingidas pelas parasitoses intestinais: as vulneráveis social e sanitariamente. O plano supramencionado pode ter estimativas de prevalência regionais subestimadas, especialmente considerando as peculiaridades das comunidades urbanas onde predomina o poder do tráfico de drogas ilícitas e censos nem sempre são possíveis de serem realizados.

O relato da funcionária da creche sobre a recomendação do próprio profissional de saúde quanto ao uso de antiparasitários uma vez ao ano sugere a necessidade de investimentos em educação continuada e permanente a esses profissionais, em especial aos da atenção básica, que teoricamente é o nível da atenção em saúde responsável pela abordagem dessas infecções. Entretanto, esses profissionais precisam estar amparados por um sistema de saúde capaz de fornecer exames parasitológicos aos seus usuários, com qualidade e agilidade para evitar a propagação das doenças parasitárias e evitar que casos de manejo simples evoluam para casos graves e hospitalização decorrentes de oclusão intestinal, disenteria severa, por exemplo.

Ressalta-se que o tratamento de indivíduos infectados, sem identificar e eliminar as possíveis fontes de infecção, não passa de medida paliativa. Portanto, reforça a ideia de que a melhoria das condições ambientais deve ser tema prioritário das ações sustentáveis de enfrentamento às enteroparasitoses (Lima Junior, Kaiser e Catisti, 2013, Cardoso et al. 2017).

A realidade ambiental da comunidade apresenta condições precárias de saneamento, como esgoto a céu aberto, eliminação de dejetos humanos em valas

sem devida encanação, dificuldade no abastecimento e manejo de água para consumo.

No Salgueiro o abastecimento de água é realizado por diferentes formas de captação e chega com dificuldade na maioria dos domicílios, e, assim, os moradores acabam improvisando estratégias de captação e armazenamento precárias. Esse fato decorre de um crescimento urbano desordenado o qual não é acompanhado por expansão das condições sanitárias locais, o que pode favorecer a transmissão de doenças associadas à pobreza, como as parasitoses intestinais (Baldursson et al. 2011, Pedrosa et al. 2016).

As condições sanitárias são colocadas como condições importantes na manutenção das parasitoses intestinais por diversos autores. Seguí et al. (2018) mostram que a redução das taxas de infecção diminuíram no estado do Paraná com o passar dos anos devido às melhorias na qualidade da água e instalações de saneamento.

Ainda no contexto ambiental da comunidade, a positividade de amostras de cães errantes para *G. intestinalis* pode sugerir uma possível relação de antropozoonose. Entretanto, essa análise deve ser combustanciada por abordagens moleculares como sequenciamento genético, a fim de avaliar a identidade dos isolados. Destaca-se que essa possibilidade já foi sugerida por Volotão et al. (2007) que realizou o primeiro estudo de genotipagem de *G. intestinalis* no Brasil, também em comunidade do Rio de Janeiro, revelando o mesmo genótipo entre um cão de estimação e seu dono.

Assim, os cães podem ter um papel importante na manutenção do ciclo de transmissão da giardíase, especialmente nas áreas de comunidades favelizadas onde existe crescimento urbano desordenado e esses animais geralmente são alimentados e cuidados por diferentes indivíduos.

Nesse sentido, Fantinatti et al. (2019) ao detectar a presença do genótipo A de *G. intestinalis* em cães de rua do Rio de Janeiro sugere que a transmissão desse parasito tem um ciclo antropozoonótico nessa região. Esse dado enfatiza a

necessidade de vigilância ambiental em todas as esferas a fim de eliminar ou reduzir a transmissão da giardiase.

As técnicas de biologia molecular aumentaram a sensibilidade de detecção de *G. intestinalis*, entretanto essa metodologia possui alto custo, o que inviabiliza sua incorporação na rotina diagnóstica. Cabe destacar que o objetivo da investigação por meio do diagnóstico molecular é a possibilidade de posteriormente identificar os genótipos desse parasito e tentar elucidar as rotas de transmissão, o que constitui perspectiva do presente estudo.

Como demonstram os resultados desse estudo, as parasitoses intestinais permanecem como uma realidade nas comunidades, afetando pré escolares e estando condicionada, possivelmente, aos fatores ambientais e sociais.

5. 1. 2. Imbariê

5. 1. 2. 1.Frequência de detecção dos parasitos intestinais e diagnóstico molecular de *Giardia intestinalis* nas amostras humanas

A frequência geral (23,4%) de parasitas encontrados na comunidade é alta em comparação com outros estudos realizados no Brasil (Casavechia et al. 2016, Faria et al. 2017, Costa et al. 2018). Entretanto, essa frequência está abaixo da encontrada no estudo de Ignacio et al. (2017), realizado em uma favela urbana carioca que encontrou uma frequência de 29,4%, e do estudo de Barbosa et al. (2018), realizado em uma comunidade rural do estado do Rio de Janeiro, que encontrou uma taxa de infecção de 64,3%.

G. intestinalis foi o parasito de maior frequência (8,2%), menor do que a encontrada (16,9%) no estudo de Coronato-Nunes et al. (2016), e semelhante aos resultados de Calegar et al. (2020), com prevalência de 8,6%. Essas taxas são altamente desproporcionais quando comparadas aos dados de países

desenvolvidos. Como exemplo, nos Estados Unidos, um estudo transversal de (n=432.813) de detecção do parasito em fragmentos de duodeno de pacientes, mostrou uma prevalência de giardíase de 0,11% (Zylberberg et al. 2017).

Nos países desenvolvidos a infecção por *G. intestinalis* está associada ao surgimento de surtos e casos importados (Adam et al. 2016, Escobedo et al. 2018, Kitowska et al. 2019). Mas, para Escobedo et al. (2018) as evidências atuais desafiam essa percepção, apontando que a giardíase deve ter relevância além das áreas com elevada prevalência. A realidade é que os dados epidemiológicos sobre giardíase são escassos, apesar da importância para a saúde pública (Ryan et al. 2019).

A presença do Complexo *E. histolytica/E. dispar* e do comensal *E. nana* nas amostras analisadas indica que estes indivíduos estão expostos à contaminação fecal-oral, e a outros protozoários entéricos patogênicos como *G. intestinalis*. Resultados que reforçam ações de vigilância e controle de doenças por veiculação hídrica e de alimentos.

A detecção de *A. lumbricoides* (n=26), *T. trichiura* (n=13), ancilostomídeos (n=5) mostra que a infecção por geohelminthos (n=45) no local de estudo é uma realidade a ser desafiada pelas estratégias de ações em saúde. A frequência de *A. lumbricoides* e *T. trichiura* foi superior à encontrada em estudo realizado em outra área rural do estado do Rio de Janeiro onde encontrou-se 1,0% e 0,7% de positividade, respectivamente (Barbosa et al. 2018). Outros estudos realizados em comunidades do Rio de Janeiro também apontam *A. lumbricoides* como o helminto mais prevalente (Costa-Macedo et al. 1998, Uchôa et al. 2009, Igancio et al. 2017).

Destaca-se aqui mais uma vez a importância das melhorias das condições sanitárias no enfrentamento das parasitoses intestinais. Barreto et al. (2010) pontuam o impacto positivo de um programa sanitário sobre a frequência das enteroparasitoses. Em seu estudo, no estado da Bahia, os autores mostram uma redução de 24,4% para 12,0% na frequência da infecção por *A. lumbricoides* e de 14,1% para 5,3% da frequência de *G. intestinalis*, os dois parasitos mais frequentes

relatados no presente estudo. Dessa forma, há uma recomendação de que o controle das enteroparasitoses deve partir de investimentos em esgotamento sanitário aliado às ações de promoção da saúde.

A relação da infecção por *Giardia* com a fonte de água inadequada e sem realização de tratamento antes do consumo aponta possíveis fatores de risco para aquisição dessa infecção na localidade do estudo.

As famílias da área estudada possuem diferentes estratégias de obtenção de água potável. Embora a companhia estadual de água forneça água encanada no bairro, esse abastecimento não é constante. Isso faz com que algumas famílias prefiram perfurar poços para obter água, sendo independentes do estado. É interessante notar que as famílias com mais recursos financeiros são as que têm mais acesso para perfurar um poço. Isso é feito para que o domicílio seja independente do abastecimento de água da empresa governamental, que às vezes falha. Paradoxalmente, isso oferece maior vulnerabilidade dessas famílias à infecção por parasitas intestinais, uma vez que os poços particulares e mal mantidos são relevantes para a transmissão de parasitos intestinais, principalmente aqueles com transmissão hídrica como *G. intestinalis* (Schnell et al. 2016).

A associação da giardíase com questões relacionadas à vulnerabilidade socio sanitária é comumente relatada na literatura e incluem variáveis como pobreza, qualidade da água para consumo, aglomeração populacional e falta de esgotamento sanitário (Coronato 2016, Ahmed et al 2018, Huth et al. 2019, Calegar et al. 2020).

Nesse estudo, a realização de tratamento da água antes do consumo também esteve relacionada à giardíase, portanto, a filtragem da água antes da ingestão mostrou-se como estratégia significativa para prevenção dessa infecção. Andrade et al. (2011) apontam em seu estudo, realizado no estado de Minas Gerais com população quilombola, uma relação direta entre a falta de tratamento na água utilizada para consumo e o aumento da prevalência de parasitoses intestinais, bem como de indivíduos poliparasitados.

Coronato-Nunes (2016), ao realizar estudo em região do Nordeste, mostrou que devido ao processo de dessalinização ocorria a filtração da água a ser consumida pela poluição, e esses indivíduos apresentavam menor prevalência de giardíase. Portanto, a autora ressalta a importância dessa estratégia para redução na transmissão de protozoários de veiculação hídrica.

Destaca-se que na comunidade grande parte dos indivíduos possuem poços artesianos, seja pela dificuldade de abastecimento por companhia ou como forma secundária de abastecimento, para superar crises de falta de água, problema comumente relatado na região. Como alternativa, existem três bicões na comunidade que estão às margens de um rio que corta o bairro e servem para captar água da companhia responsável pelo abastecimento local. Esse rio possui a deposição visível de grande quantidade de lixo e em períodos de cheia serve como atividade recreativa para muitas crianças.

Dias et al. (2018) recomenda a distribuição de filtros domiciliares como solução eficaz para moradores rurais de baixa renda combinada a avaliações periódicas da qualidade da água de cisternas. Destacam os autores que os programas de expansão do abastecimento de água no Brasil necessitam incorporar o tratamento doméstico da água com educação em saúde para prevenir as parasitoses intestinais.

Nesse estudo, vinte amostras positivas no EPF não se mostraram positivas na PCR, resultado que pode estar relacionado com a baixa quantidade de cistos em algumas amostras. Cabe destacar que das amostras positivas na PCR para giardíase, preliminarmente, sabe-se que cinco amostras são genótipo B e uma é genótipo A, genótipos associados à infecção de humanos e outros hospedeiros mamíferos e que são considerados potencialmente zoonóticos. Resultado também encontrado no estudo de Coronato-Nunes et al. (2018) ao avaliar a diversidade genética de *G. intestinalis* de amostras obtidas em diferentes biomas brasileiros encontraram apenas os genótipos A e B circulando na população. Entretanto, cabe ressaltar que esses dados encontram-se em análise e constituem perspectiva do

presente estudo, com a construção de árvores filogenéticas. Salienta-se que o primeiro relato da identificação do genótipo B no Rio de Janeiro é recente e abre espaço para se repensar novas rotas de transmissão da giardíase no estado (Faria et al. 2016).

5. 1. 2. 2. Detecção de parasitos intestinais e diagnóstico molecular de *Giardia intestinalis* nas amostras ambientais

A detecção de *G. intestinalis* no exame parasitológico das amostras de cães errantes também aponta para possibilidade desses animais estarem envolvidos em um ciclo antroponótico dentro da comunidade estudada.

O encontro de *Trichuris* sp. permite avaliar três hipóteses: a) Pseudoparasitismo; b) Infecção por *T. vulpis* e c) Infecção por *T. trichiura*. Esse resultado pode ser melhor esclarecido pelo estudo da morfologia dos ovos em microscopia eletrônica ou abordagens de biologia molecular. Mas, merece destaque a informação de que uma família com sete indivíduos infectados por *T. trichiura* também possuía um cão parasitado por *Trichuris* sp. no seu peridomicílio.

Nesse sentido, embora a maioria dos casos de tricuriase em humanos são associados a *T. trichiura*, há evidência de parasitismo humano pela espécie *T. vulpis*, sugerindo um caráter zoonótico de transmissão (Traversa 2011). Areekul et al. (2010) por meio de marcadores moleculares mostraram na Tailândia que crianças com tricuriase tinham ovos de *T. vulpis* em suas fezes, sugerindo o possível potencial zoonótico deste parasito no local de estudo.

Em relação ao diagnóstico molecular de *G. intestinalis* nas amostras de água e de cães, a positividade de duas e uma amostra, respectivamente, podem possibilitar estudos de sequenciamento genético para tentar elucidar possíveis rotas de transmissão na comunidade.

5. 1. 2. 3. Diagnóstico molecular de *Cryptosporium* spp.

A infecção por *Cryptosporidium* é considerada a segunda maior causa de doença diarreica aguda em crianças menores de cinco anos (Ryan e Hijjawi, 2015). Nesse estudo, foram encontradas duas crianças parasitadas por *C. parvum*, genótipo humano. Pesquisa realizada no Rio de Janeiro com pacientes infectados pelo HIV e com diarreia mostrou uma prevalência maior de *C. parvum*, genótipo humano em relação a *C. parvum*, genótipo parvum (Peralta et al. 2016). A identificação e caracterização dos genótipos de *Cryptosporidium* são essenciais no estudo da epidemiologia da criptosporidiose, o que auxilia estratégias de prevenção e controle.

Como destacado, uma das crianças infectadas por *Cryptosporidium* sp estava poliparasitada. Sabendo-se dos prejuízos causados pelas enteroparasitoses, como déficit cognitivo e no desenvolvimento físico, esse indivíduo pode apresentar danos irreparáveis a médio e longo prazo, principalmente se não houver perspectivas para mudanças nas condições socioambientais da localidade (Squire e Ryan, 2017, Mmbaga e Houpt, 2017).

Ressalta-se que no Brasil, apesar dos números significativos de estudos sobre criptosporidiose, a epidemiologia molecular do parasito ainda é pouco explorada. Esse dado está relacionado à predominância dos métodos baseados em microscopia para o diagnóstico desse parasito e devido ao alto custo das técnicas moleculares (Meireles et al. 2010).

5. 1. 2. 4. Percepção dos moradores sobre a problemática das parasitoses intestinais na comunidade

O discurso dos moradores corrobora o problema de saúde pública que as parasitoses intestinais representam na comunidade. Destaca-se que os discursos em sua maioria privilegiam a conduta medicamentosa, fato esse compatível ao

questionamento sobre a realização regular de EPF pelos participantes, onde apenas 20 relataram tal prática.

Chama a atenção o discurso sobre o consumo de doces, ainda visto por muitos indivíduos como fator de risco para as parasitoses intestinais. Dado também relatado em outro estudo realizado no Rio de Janeiro e que demonstra a necessidade de mais ações educativas a fim de proporcionar aos indivíduos um conhecimento mais amplo sobre os fatores de risco e medidas preventivas sobre as parasitoses intestinais (Moraes-Neto et al. 2010).

Quanto às vivências na comunidade, os moradores relataram a habitualidade da eliminação de vermes adultos de *A. lumbricoides*, especialmente em crianças, assim como na comunidade do Salgueiro, mostrando que esse problema permanece oculto e velado como algo "normal" em localidades desprovidas de condições sanitárias salubres.

Os dados do presente estudo apontam para a necessidade de esforços intersetoriais, multi e transdisciplinares no enfrentamento das parasitoses intestinais, destacando o saneamento como ação prioritária na efetivação do direito à saúde. O ciclo da pobreza econômica e aquisição de doença por moradores de favelas urbanas está envolto por um complexo de determinantes que condicionam a recorrência de infecção e falta de esperança na transformação da realidade local, realidade esta que pode ser melhorada com a efetivação do direito ao saneamento.

5. 2. A giardíase altera os níveis de proteína ligante de ácidos graxos intestinais (I-FABP) e de citocinas plasmáticas em crianças no Brasil

As principais conclusões deste estudo são que as crianças infectadas com *Giardia* exibiram níveis plasmáticos elevados de IL-17 e níveis reduzidos de IL-8 em comparação com crianças não infectadas com parasitos intestinais. Crianças infectadas também apresentaram menores taxas de IFN- γ /IL-10 e níveis elevados de

I-FABP que se correlacionaram com IL-17 e TNF. O aumento nos níveis de I-FABP, entretanto, não foi relacionado ao genótipo de *G. intestinalis* envolvido na infecção.

Respostas elevadas de IL-17 *in vitro* foram relatadas em uma coorte de viajantes adultos retornando à Dinamarca com giardíase (Saghaug et al. 2017) e IL-17 mostrou ser essencial para o controle adequado de infecções por *G. muris* e *G. intestinalis* em camundongos (Singer, 2016). Este é o primeiro estudo realizado de que se tem conhecimento mostrando a produção de IL-17 em crianças com giardíase.

A interleucina-8 é uma quimiocina que recruta neutrófilos para locais de infecção e inflamação. Trabalhos recentes indicaram que as proteases secretadas por *Giardia* são capazes de degradar a IL-8 *in vitro* (Cotton et al. 2014a). Além disso, as respostas dos granulócitos após a administração intracolônica da toxina C. difficile foram atenuadas em camundongos infectados com *G. intestinalis* (Cotton et al. 2014b). Este é o primeiro relato, até onde sabemos, de níveis sistêmicos reduzidos de IL-8 na giardíase. Seria interessante determinar se os níveis de citocinas na mucosa também estão diminuídos.

O interferon- γ é uma citocina frequentemente associada à imunopatologia da giardíase. Em um estudo de pacientes no Irã, os pacientes sintomáticos tinham níveis mais elevados de IFN- γ do que os controles não infectados, enquanto os pacientes com infecções assintomáticas não (Pacheco et al. 2019). Não foi possível classificar as crianças infectadas com *Giardia* neste estudo como sintomáticas ou assintomáticas. No entanto, encontrou-se uma proporção reduzida de IFN- γ /IL-10 nas crianças infectadas. Isso é consistente com a falta de inflamação frequentemente relatada na giardíase.

Embora a giardíase tenha anteriormente demonstrado impacto na permeabilidade epitelial (Fink e Singer, 2017), outros marcadores de dano intestinal não foram amplamente abordados nesta infecção. Os resultados do presente estudo são os primeiros a indicar que crianças com infecções por *Giardia* apresentam níveis elevados de I-FABP, um marcador de dano às células epiteliais. Além disso, embora

os níveis de I-FABP fossem independentes do tipo de genótipo que infectava as crianças, eles se correlacionaram com os níveis plasmáticos de IL-17 e TNF. Essa correlação pode indicar que as próprias respostas imunes contribuem para o dano epitelial observado ou pode refletir que o dano epitelial facilita a indução da resposta de desenvolvimento Th17 resultando na produção de IL-17 e TNF. Infelizmente, os dados desse estudo não foram capazes de determinar uma relação causal entre essas citocinas e os níveis de I-FABP.

O presente estudo apresenta várias limitações. Em primeiro lugar, o acesso limitado a amostras biológicas adicionais evita tirar conclusões extensas sobre os padrões observados e uma coorte maior deve ser usada para confirmar essas observações. Não foi realizada vigilância sistemática sobre o estado de diarreia, embora alterações na consistência das fezes tenham sido frequentemente observadas entre as crianças estudadas. Embora houve exclusão de infecções parasitárias concomitantes e apenas crianças infectadas com *Giardia* foram incluídas no estudo, não foram avaliadas se infecções bacterianas ou virais estavam presentes, o que também poderia contribuir para os níveis sistêmicos de citocinas e/ou I-FABP. Finalmente, devido ao desenho do estudo transversal, não há como determinar se as crianças inscritas no estudo haviam sido previamente infectadas com *Giardia*, uma vez que uma resposta imunológica secundária pode levar a uma produção muito maior de citocinas.

Em síntese, os achados desse estudo fornecem novas informações sobre os níveis de citocinas e I-FABP em crianças com giardíase e sugerem uma ligação entre o dano da mucosa e a resposta imune. Mais estudos para identificar os mecanismos subjacentes a essa correlação são necessários.

6. CONCLUSÕES

- *Giardia intestinalis* e *Ascaris lumbricoides* foram os agentes patogênicos mais frequentes nas localidades estudadas;
- As parasitoses intestinais mostram-se como problema de saúde pública habitual nas localidades estudadas, sendo enfatizada nos discursos por eliminação de vermes adultos de *A. lumbricoides*;
- A detecção de *G. intestinalis* em amostras de animais errantes e na água utilizada para consumo sugerem contaminação ambiental;
- Em Imbariê, a fonte da água e seu manejo antes do consumo esteve associado à infecção por *G. intestinalis* e *A. lumbricoides*;
- Dados preliminares mostram a circulação dos genótipos A e B de *G. intestinalis* em Imbariê, o que sugere um perfil de transmissão inter humana na localidade;
- O aumento de I-FABP em pré-escolares infectados por *G. intestinalis* indica que o parasito leva à lise de enterócitos, contribuindo para quebra de barreira intestinal. As alterações nos níveis de citocinas sistêmicas, bem como a correlação positiva entre I-FABP e IL-17 e TNF mostram que o acometimento intestinal pode levar a repercussões sistêmicas da resposta imune.

7. PERSPECTIVAS

- Investigar os genótipos de *Giardia intestinalis* circulantes nas localidades;
- Aumentar a investigação com novas amostras de água de consumo e animais errantes, a fim de verificar os genótipos de *Giardia intestinalis* transmitidos e estabelecer possíveis rotas de transmissão nas comunidades;
- Realizar estudos de biologia celular e sequenciamento com ovos e vermes de *Ascaris lumbricoides*;
- Realizar as atividades de educação em saúde com a população e de educação permanente com os profissionais, a fim de difundir informações sobre práticas preventivas à aquisição das enteroparasitoses;
- Investigar se existem casos de resistência parasitária ao tratamento da giardíase com metronidazol.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adam EA, Yoder JS, Gould LH, Hlavsa MC, Gargano JW. Giardiasis outbreaks in the United States, 1971-2011. *Epidemiol Infect.* 2016;144(13):2790-2801.

Ahmed, S. A., Guerrero Flórez, M., & Karanis, P. (2018). The impact of water crises and climate changes on the transmission of protozoan parasites in Africa. *Pathogens and global health*, 112(6), 281–293.

Alves EBS, Conceição MJ, Silva VL, Fonseca ABM, Leles D. What is the future of intestinal parasitic diseases in developing countries?. *Acta Tropica.* 2017;171:6-7.

Andrade EC et al. Parasitoses intestinais: uma revisão sobre seus aspectos sociais, epidemiológicos, clínicos e terapêuticos. *Revista de APS* 13.2 (2010).

Andrade, Elisabeth Campos de, et al. "Prevalência de parasitoses intestinais em comunidade quilombola no Município de Bias Fortes, Estado de Minas Gerais, Brasil, 2008." *Epidemiologia e Serviços de Saúde* 20.3 (2011): 337-344.

Areekul, Pannatat, Chaturong Putaporntip, Urassaya Pattanawong, Prasert Sitthicharoenchai e Somchai Jongwutiwes. "Infecções por *Trichuris vulpis* e *T. trichiura* entre alunos de uma comunidade rural no noroeste da Tailândia: o possível papel dos cães na transmissão de doenças". *Asian Biomedicine* 4.1 (2010): 49-60.

Austríaco-Teixeira P, Oliveira LA, Fantinatti M. *Giardia duodenalis* Genotyping from Dogs and Cats in Brazil: A Reality Still Unknown. *Journal of Dairy and Veterinary Sciences*, 2019.

Austríaco-Teixeira, PA, Fantinatti, M., Gonçalves, MP, & da Silva, JS (2020). Parasitoses intestinais e saneamento básico no Brasil: estudo de revisão integrativa. *Revista Brasileira de Desenvolvimento*, 6 (5), 22867-22890.

Austríaco-Teixeira, Phelipe. Conhecimentos sobre parasitoses intestinais como estratégia para subsidiar ferramentas de educação em saúde. 2016. 81 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical)-Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, 2016.

Babaei, Z., Malihi, N., Zia-Ali, N., Sharifi, I., Mohammadi, M. A., Kagnoff, M. F., Eckmann, L., Singer, S. M., & Solaymani-Mohammadi, S. (2016). Adaptive immune response in symptomatic and asymptomatic enteric protozoal infection: evidence for a determining role of parasite genetic heterogeneity in host immunity to human giardiasis. *Microbes and infection*, 18(11), 687–695

Balassiano, Bianca Chiganer Cramer et al. "Factors associated with gastrointestinal parasite infection in dogs in Rio de Janeiro, Brazil." *Preventive veterinary medicine* vol. 91,2-4 (2009): 234-40.

Barbosa, C. V., Barreto, M. M., Andrade, R. J., Sodr , F., d'Avila-Levy, C. M., Peralta, J. M., Igreja, R. P., de Macedo, H. W., & Santos, H. (2018). Intestinal parasite infections in a rural community of Rio de Janeiro (Brazil): Prevalence and genetic diversity of Blastocystis subtypes. *PloS one*, 13(3), e0193860.

Barreto, M. L., Genser, B., Strina, A., Teixeira, M. G., Assis, A. M., Rego, R. F., Teles, C. A., Prado, M. S., Matos, S., Alcântara-Neves, N. M., & Cairncross, S. (2010). Impact of a citywide sanitation program in Northeast Brazil on intestinal parasites infection in young children. *Environmental health perspectives*, 118(11), 1637–1642.

Brasil 2011. Ministério do Desenvolvimento Social e Combate   Fome. Nota MDS-O perfil de extrema pobreza no Brasil com baseado nos Dados Preliminares do Censo de 2010. Brasília, DF.

Brasil 2020. Banco de dados do Sistema  nico de Saúde - DATASUS. Informa es de Saúde, Sistema de Informa es sobre Mortalidade. Disponível em <http://www.datasus.gov.br/catalogo/sim.htm>.

Brasil. Casa Civil. Medida provisória n  132, de 20 de outubro 2003.

Brasil. Censo Demográfico de 2010. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE, 2010.

Brasil. Lei no 11.445, de 05 de janeiro de 2007. Estabelece diretrizes nacionais para o saneamento básico e para a política federal de saneamento básico. Diário Oficial da União 2007a; 08 jan.

Brasil. Ministério da Saúde. Plano Nacional de Vigilância e Controle das Enteroparasitoses. Secretaria de Vigilância em Saúde. Brasília: Ministério da Saúde, 2005.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Aten o   Saúde. Departamento de Aten o Básica. Política Nacional de Aten o Básica / Ministério da Saúde, Secretaria de Aten o   Saúde, Departamento de Aten o Básica. – 4. ed. – Brasília: Ministério da Saúde, 2007b.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância de Doenças e Agravos Não Transmissíveis e Promo o da Saúde. Saúde Brasil 2014: uma análise da situa o de saúde e das causas externas / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de

Vigilância de Doenças e Agravos Não Transmissíveis e Promoção da Saúde. – Brasília: Ministério da Saúde, 2015. 462 p.: il.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Coordenação Geral de Hanseníase E Doenças Em Eliminação. Informe Técnico e Operacional. “V Campanha Nacional de Hanseníase, Verminoses, Tracoma e Esquistossomose”. Brasília, outubro de 2017. 17pp.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Guia Prático para o Controle das Geo-helminthiases [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. – Brasília: Ministério da Saúde, 2018b. 33 p.: il.

Brasil. Ministério das Cidades. Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental – SNSA. Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento: Diagnóstico dos Serviços de Água e Esgotos – 2016. Brasília: SNSA/MCIDADES, 2018a. 218 p.: il.

Brasil. Pesquisa de Informações Básicas Municipais - MUNIC. Relatório 2018a. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas/sociais/educacao/10586-pesquisa-de-informacoes-basicas-municipais.html?edicao=25506&t=destaques>>.

Breen, E. J., Polaskova, V., & Khan, A. (2015). Bead-based multiplex immuno-assays for cytokines, chemokines, growth factors and other analytes: median fluorescence intensities versus their derived absolute concentration values for statistical analysis. *Cytokine*, 71(2), 188–198

Brenchley, J. M., Price, D. A., Schacker, T. W., Asher, T. E., Silvestri, G., Rao, S., Kazzaz, Z., Bornstein, E., Lambotte, O., Altmann, D., Blazar, B. R., Rodriguez, B., Teixeira-Johnson, L., Landay, A., Martin, J. N., Hecht, F. M., Picker, L. J., Lederman, M. M., Deeks, S. G., & Douek, D. C. (2006). Microbial translocation is a cause of systemic immune activation in chronic HIV infection. *Nature medicine*, 12(12), 1365–1371.

Cacciò, S. M., & Ryan, U. (2008). Molecular epidemiology of giardiasis. *Molecular and biochemical parasitology*, 160(2), 75–80.

Cacciò, S. M., De Giacomo, M., & Pozio, E. (2002). Sequence analysis of the beta-giardin gene and development of a polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism assay to genotype *Giardia duodenalis* cysts from human faecal samples. *International journal for parasitology*, 32(8), 1023–1030

Calegar, D. A., Monteiro, K., Gonçalves, A. B., Boia, M. N., Jaeger, L. H., Nunes, B. C., & Carvalho-Costa, F. A. (2020). Infections with *Giardia*

duodenalis and *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* as Hidden and Prevalent Conditions in Periurban Communities in the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Journal of tropical medicine*, 2020, 3134849.

Cardona, G. A., de Lucio, A., Bailo, B., Cano, L., de Fuentes, I., & Carmena, D. (2015). Unexpected finding of feline-specific *Giardia duodenalis* assemblage F and *Cryptosporidium felis* in asymptomatic adult cattle in Northern Spain. *Veterinary parasitology*, 209(3-4), 258–263.

Cardoso, B. A., Fonseca, F. O., Moraes, A., Neto, Martins, A., Oliveira, N., Lima, L., Dias, G., & Saad, M. (2017). Environmental aspects related to tuberculosis and intestinal parasites in a low-income community of the Brazilian Amazon. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 59, e57.

Cascais-Figueiredo, T., Austriaco-Teixeira, P., Fantinatti, M., Silva-Freitas, M. L., Santos-Oliveira, J. R., Coelho, C. H., Singer, S. M., & Da-Cruz, A. M. (2019). Giardiasis Alters Intestinal Fatty Acid Binding Protein (I-FABP) and Plasma Cytokines Levels in Children in Brazil. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 9(1), 7

Centers For Disease Control And Prevention (CDC) 2021. Available from: <http://www.cdc.gov/>.

Certad, G., Viscogliosi, E., Chabé, M., & Cacciò, S. M. (2017). Pathogenic Mechanisms of *Cryptosporidium* and *Giardia*. *Trends in parasitology*, 33(7), 561–576.

Chin, A. C., Teoh, D. A., Scott, K. G., Meddings, J. B., Macnaughton, W. K., & Buret, A. G. (2002). Strain-dependent induction of enterocyte apoptosis by *Giardia lamblia* disrupts epithelial barrier function in a caspase-3-dependent manner. *Infection and immunity*, 70(7), 3673–3680.

Coelho, C. H., Durigan, M., Leal, D., Schneider, A. B., Franco, R., & Singer, S. M. (2017). Giardiasis as a neglected disease in Brazil: Systematic review of 20 years of publications. *PLoS neglected tropical diseases*, 11(10), e0006005.

Coronato Nunes, B., Pavan, M. G., Jaeger, L. H., Monteiro, K. J., Xavier, S. C., Monteiro, F. A., Bóia, M. N., & Carvalho-Costa, F. A. (2016). Spatial and Molecular Epidemiology of *Giardia intestinalis* Deep in the Amazon, Brazil. *PloS one*, 11(7), e0158805.

Coronato-Nunes, B. *Giardia duodenalis* em três municípios das regiões norte e nordeste do Brasil estudo epidemiológico, molecular e ações de educação em saúde. 2016. 160f. Tese (Doutorado em Medicina Tropical) - Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, 2016.

Costa-Macedo, L. M. D., Machado-Silva, J. R., Rodrigues-Silva, R., Oliveira, L. M., & Vianna, M. S. R. (1998). Enteroparasitoses em pré-escolares de

comunidades favelizadas da cidade do Rio de Janeiro, Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, 14, 851-855.

Cotton, JA, Bhargava, A., Ferraz, JG, Yates, RM, Beck, PL, & Buret, AG (2014). As proteases da catepsina B de *Giardia duodenalis* degradam a interleucina-8 epitelial intestinal e atenuam a quimiotaxia de neutrófilos induzida pela interleucina-8. *Infecção e imunidade*, 82 (7), 2772-2787.

Cotton, JA, Motta, JP, Schenck, LP, Hirota, SA, Beck, PL, & Buret, AG (2014). A infecção por *Giardia duodenalis* reduz a infiltração de granulócitos em um modelo in vivo de colite induzida por toxina bacteriana e atenua a inflamação no tecido intestinal humano. *PloS one*, 9 (10), e109087.

Criscione, C. D., Anderson, J. D., Sudimack, D., Peng, W., Jha, B., Williams-Blangero, S., & Anderson, T. J. (2007). Disentangling hybridization and host colonization in parasitic roundworms of humans and pigs. *Proceedings. Biological sciences*, 274(1626), 2669–2677.

da Silva, J. V., Fontes, G., Dos Santos, C. D., Dos Santos, R. V., & da Rocha, E. M. (2016). Factors Associated with Gastrointestinal Parasitic Infections among Young Population in Northeast Brazil. *The Canadian journal of infectious diseases & medical microbiology = Journal canadien des maladies infectieuses et de la microbiologie medicale*, 2016, 6239434.

da Silva, P. V., Maciel, L., Castro, L. S., Murat, P. G., Higa Junior, M. G., Zerlotti, P. H., Motta-Castro, A., Pontes, E., & Dorval, M. (2018). Enteroparasites in Riverside Settlements in the Pantanal Wetlands Ecosystem. *Journal of parasitology research*, 2018, 6839745.

Damazio, S. M., Lima, M., Soares, A. R., & Souza, M. A. (2013). Intestinal parasites in a quilombola community of the Northern State of Espírito Santo, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 55(3), S0036-46652013000300179.

Dias, A. P., Calegar, D., Carvalho-Costa, F. A., Alencar, M., Ignacio, C. F., da Silva, M., & de Moraes Neto, A. (2018). Assessing the Influence of Water Management and Rainfall Seasonality on Water Quality and Intestinal Parasitism in Rural Northeastern Brazil. *Journal of tropical medicine*, 2018, 8159354.

Dunn, J. C., Bettis, A. A., Wyine, N. Y., Lwin, A., Tun, A., Maung, N. S., & Anderson, R. M. (2019). Soil-transmitted helminth reinfection four and six months after mass drug administration: results from the delta region of Myanmar. *PLoS neglected tropical diseases*, 13(2), e0006591.

Escobedo, A. A., Almirall, P., Hanevik, K., Cimerman, S., Rodríguez-Morales, A. J., Almanza, C., & Auza-Santivañez, J. (2018). Giardiasis: a diagnosis

that should be considered regardless of the setting. *Epidemiology and infection*, 146(10), 1216–1218.

Fantinatti, M., Bello, A. R., Fernandes, O., & Da-Cruz, A. M. (2016). Identification of *Giardia lamblia* Assemblage E in Humans Points to a New Anthrozoonotic Cycle. *The Journal of infectious diseases*, 214(8), 1256–1259

Fantinatti, M., Caseca, A. C., Bello, A. R., Fernandes, O., & Da-Cruz, A. M. (2018). The presence of *Giardia lamblia* assemblage A in dogs suggests an anthrozoonotic cycle of the parasite in Rio de Janeiro, Brazil. *Infection, genetics and evolution : journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*, 65, 265–269

Fantinatti, M., Gonçalves-Pinto, M., Lopes-Oliveira, L., & Da-Cruz, A. M. (2021). Epidemiology of *Giardia duodenalis* assemblages in Brazil: there is still a long way to go. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 115, e200431

Fantinatti, M., Lopes-Oliveira, L., Cascais-Figueredo, T., Austriaco-Teixeira, P., Verissimo, E., Bello, A. R., & Da-Cruz, A. M. (2020). Recirculation of *Giardia lamblia* Assemblage A After Metronidazole Treatment in an Area With Assemblages A, B, and E Sympatric Circulation. *Frontiers in microbiology*, 11, 571104.

Faria, C. P., Zanini, G. M., Dias, G. S., da Silva, S., & Sousa, M. (2016). Molecular Characterization of *Giardia lamblia*: First Report of Assemblage B in Human Isolates from Rio de Janeiro (Brazil). *PloS one*, 11(8), e0160762.

Feng, Y., & Xiao, L. (2011). Zoonotic potential and molecular epidemiology of *Giardia* species and giardiasis. *Clinical microbiology reviews*, 24(1), 110–140.

Fink, M. Y., & Singer, S. M. (2017). The Intersection of Immune Responses, Microbiota, and Pathogenesis in Giardiasis. *Trends in parasitology*, 33(11), 901–913.

Fiuza, V. R., Cosendey, R. i., & de oliveira, F. C. (2008). Criptosporidiose suína associada aos sistemas de produção no Estado do Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 17(1), 224-229.

Fontes, A. M., Gusson, V. P., de Souza, A. A., & de Souza, M. A. (2017). Identification of enteroparasites in recreation areas of elementary schools in Northern Espírito Santo, Brazil. *Revista de salud publica (Bogota, Colombia)*, 19(6), 795–799.

Frei, F., Juncansen, C., & Ribeiro-Paes, J. T. (2008). Levantamento epidemiológico das parasitoses intestinais: viés analítico decorrente do tratamento profilático [Epidemiological survey of intestinal parasite infections: analytical bias due to prophylactic treatment]. *Cadernos de saude publica*, 24(12), 2919–2925.

Ignacio, C. F., de Lima Barata, M. M., & de Moraes Neto, A. (2018). The Brazilian Family Health Strategy and the management of intestinal parasitic infections. *Primary health care research & development*, 19(4), 333–343.

Ignacio, C. F., Silva, M., Handam, N. B., Alencar, M., Sotero-Martins, A., Barata, M., & Moraes, A., Neto (2017). Socioenvironmental conditions and intestinal parasitic infections in Brazilian urban slums: a cross-sectional study. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 59, e56.

Iñiguez, A. M., Leles, D., Jaeger, L. H., Carvalho-Costa, F. A., Araújo, A., & Amazonas Research Group (2012). Genetic characterisation and molecular epidemiology of *Ascaris* spp. from humans and pigs in Brazil. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 106(10), 604–612

Katz, N., Chaves, A., & Pellegrino, J. (1972). A simple device for quantitative stool thick-smear technique in Schistosomiasis mansoni. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 14(6), 397–400.

Kitowska, W., Milczarek, M., & Sadkowska-Todys, M. (2019). Giardiasis (lamblia) in Poland in 2017. *Przegląd epidemiologiczny*, 73(4), 499–509.

Lalle, M., Pozio, E., Capelli, G., Bruschi, F., Crotti, D., & Cacciò, S. M. (2005). Genetic heterogeneity at the beta-giardin locus among human and animal isolates of *Giardia duodenalis* and identification of potentially zoonotic subgenotypes. *International journal for parasitology*, 35(2), 207–213.

Lane, S., & Lloyd, D. (2002). Current trends in research into the waterborne parasite Giardia. *Critical reviews in microbiology*, 28(2), 123–147. <https://doi.org/10.1080/1040-840291046713>

Lasek-Nesselquist, E., Welch, D. M., & Sogin, M. L. (2010). The identification of a new *Giardia duodenalis* assemblage in marine vertebrates and a preliminary analysis of *G. duodenalis* population biology in marine systems. *International journal for parasitology*, 40(9), 1063–1074.

Lima Junior, O. A., Kaiser, J., & Catisti, R. (2013). High occurrence of giardiasis in children living on a 'landless farm workers' settlement in Araras, São Paulo, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 55(3), S0036-46652013000300185.

Liu, J., Ma'ayeh, S., Peirasmaki, D., Lundström-Stadelmann, B., Hellman, L., & Svärd, S. G. (2018). Secreted *Giardia intestinalis* cysteine proteases disrupt intestinal epithelial cell junctional complexes and degrade chemokines. *Virulence*, 9(1), 879–894.

Luján HD, Svärd S, *Giardia*: A model organism. New York: Springer, 2011. 29-61.

Macchioni, F., Segundo, H., Gabrielli, S., Totino, V., Gonzales, P. R., Salazar, E., Bozo, R., Bartoloni, A., & Cancrini, G. (2015). Dramatic decrease in prevalence of soil-transmitted helminths and new insights into intestinal protozoa in children living in the Chaco region, Bolivia. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 92(4), 794–796.

Macedo, HW, Gonçalves, AMH, de Almeida, CB, Dias, LVB, & Muniz, MF (2010). Infecção por *Blastocystis hominis* e *Entamoeba histolytica* / *Entamoeba* dispar em pacientes atendidos em um hospital em Niterói, Rio de Janeiro, Brasil. *Revista de Patologia Tropical*, 39 (1), 56-62.

Mata-Santos, T., Gatti, F. A. D. A., Mascarenhas, C. S., Martins, L. H. R., Mata-Santos, H. A., Fenalti, J. M., ... & Scaini, C. J. (2013). Prevalência de enteroparasitas em crianças atendidas em unidades básicas de saúde em uma cidade do sul do Brasil.

Mati, V. L. T., Pinto, J. H., & de Melo, A. L. (2011). Levantamento de parasitos intestinais nas áreas urbana e rural de Itambé do Mato Dentro, Minas Gerais, Brasil. *Revista de Patologia Tropical/Journal of Tropical Pathology*, 40(1), 92-100.

Meireles M. V. (2010). *Cryptosporidium* infection in Brazil: implications for veterinary medicine and public health. *Revista brasileira de parasitologia veterinaria = Brazilian journal of veterinary parasitology : Orgao Oficial do Colegio Brasileiro de Parasitologia Veterinaria*, 19(4), 197–204.

Menezes, V. F. P., da Silva Medeiros, N., & Dani, C. (2012). Prevalência de enteroparasitoses em escolares: uma revisão do perfil encontrado nas diferentes regiões do Brasil. *Revista Brasileira Multidisciplinar*, 15(2), 7-18.

Mmbaga, B. T., & Houpt, E. R. (2017). *Cryptosporidium* and *Giardia* Infections in Children: A Review. *Pediatric clinics of North America*, 64(4), 837–850.

Monis, P. T., Andrews, R. H., Mayrhofer, G., & Ey, P. L. (1999). Molecular systematics of the parasitic protozoan *Giardia intestinalis*. *Molecular biology and evolution*, 16(9), 1135–1144.

Monteiro, K., Calegar, D. A., Santos, J. P., Bacelar, P., Coronato-Nunes, B., Reis, E., Boia, M. N., Carvalho-Costa, F. A., & Jaeger, L. H. (2019). Genetic diversity of *Ascaris* spp. infecting humans and pigs in distinct Brazilian regions, as revealed by mitochondrial DNA. *PloS one*, 14(6), e0218867.

Moraes Neto, A. H., Pereira, A. P., Alencar, M., Souza, P. R., Jr, Dias, R. C., Fonseca, J. G., Santos, C. P., & Almeida, J. C. (2010). Prevalence of intestinal parasites versus knowledge, attitudes, and practices of inhabitants of low-income communities of Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro State, Brazil. *Parasitology research*, 107(2), 295–307.

Nejsum, P., Hawash, M. B., Betson, M., Stothard, J. R., Gasser, R. B., & Andersen, L. O. (2017). *Ascaris* phylogeny based on multiple whole mtDNA genomes. *Infection, genetics and evolution : journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*, 48, 4–9

Neto, L. M., Oliveira, R., Totino, P. R., Sant'Anna, F. M., Coelho, V., Rolla, V. C., & Zanini, G. M. (2009). Enteroparasitosis prevalence and parasitism influence in clinical outcomes of tuberculosis patients with or without HIV co-infection in a reference hospital in Rio de Janeiro (2000-2006). *The Brazilian journal of infectious diseases : an official publication of the Brazilian Society of Infectious Diseases*, 13(6), 427–432.

NEVES, David Pereira. *Parasitologia Humana*. 13. ed. São Paulo, 2016.

Nunes, B. C., Calegar, D. A., Pavan, M. G., Jaeger, L. H., Monteiro, K., Dos Reis, E., Lima, M. M., Bóia, M. N., & Carvalho-Costa, F. A. (2018). Genetic diversity of *Giardia duodenalis* circulating in three Brazilian biomes. *Infection, genetics and evolution : journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*, 59, 107–112.

Oliveira R. G. (2018). Sentidos das Doenças Negligenciadas na agenda da Saúde Global: o lugar de populações e territórios [Meanings of Neglected Diseases in the Global Health agenda: the place of populations and territories]. *Ciencia & saude coletiva*, 23(7), 2291–2302.

Organização Mundial da Saúde. (2005). *Desparasitação para saúde e desenvolvimento: relatório do Terceiro Encontro Global de Parceiros para o Controle de Parasitas* (nº WHO / CDS / CPE / PVC / 2005.14). Organização Mundial da Saúde.

Organização Mundial da Saúde. (2012). *Helminthíases transmitidas pelo solo: eliminando como problema de saúde pública as helmintíases transmitidas pelo solo em crianças: relatório de progresso 2001-2010 e plano estratégico 2011-2020*. Organização Mundial da Saúde.

Organização Mundial da Saúde. (2017). *Difusão global da eSaúde: tornando a cobertura universal de saúde alcançável: relatório da terceira pesquisa global sobre eSaúde*. Organização Mundial da Saúde.

ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. Directrices: Quimioterapia preventiva para controlar las geohelmintiasis en grupos de población em riesgo. Ginebra, 2018.

Otto TD, Catanho M, Degraive W, de Miranda AB 2007. The PDTIS bioinformatics platform: from sequence to function. RECIIS: R Eletr de Com Inf Inov Saúde Supl 1:286-94.

Pacheco, F., Carvalho, S. S., Cardoso, L. S., Andrade, L. S., das Chagas, G., Gomes, D. C., Mercês, C. F., Rocha, F. C., Silva, L. K., Soares, N. M., & Teixeira, M. (2019). Immune response markers in sera of children infected with *Giardia duodenalis* AI and AII subassemblages. *Immunobiology*, 224(4), 595–603.

Paiva, R. F. D. P. D. S., & Souza, M. F. D. P. D. (2018). Associação entre condições socioeconômicas, sanitárias e de atenção básica e a morbidade hospitalar por doenças de veiculação hídrica no Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, 34, e00017316.

Pedrosa, R. N., Miranda, L. I. B. D., & Ribeiro, M. M. R. (2016). Avaliação pós-ocupação sob o aspecto do saneamento ambiental em área de interesse social urbanizada no município de Campina Grande, Paraíba. *Engenharia Sanitaria e Ambiental*, 21(3), 535-546.

Peng, W., Yuan, K., Hu, M., Zhou, X., & Gasser, R. B. (2005). Mutation scanning-coupled analysis of haplotypic variability in mitochondrial DNA regions reveals low gene flow between human and porcine *Ascaris* in endemic regions of China. *Electrophoresis*, 26(22), 4317–4326.

Peng, W., Yuan, K., Zhou, X., Hu, M., Abs EL-Osta, Y. G., & Gasser, R. B. (2003). Molecular epidemiological investigation of *Ascaris* genotypes in China based on single-strand conformation polymorphism analysis of ribosomal DNA. *Electrophoresis*, 24(14), 2308–2315.

Peoc'h, K., Nuzzo, A., Guedj, K., Paugam, C., & Corcos, O. (2018). Diagnosis biomarkers in acute intestinal ischemic injury: so close, yet so far. *Clinical chemistry and laboratory medicine*, 56(3), 373–385.

Peralta, R. H., Velásquez, J. N., Cunha, F., Pantano, M. L., Sodr e, F. C., Silva, S. d., Astudillo, O. G., Peralta, J. M., & Carnevale, S. (2016). Genetic diversity of *Cryptosporidium* identified in clinical samples from cities in Brazil and Argentina. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 111(1), 30–36.

Platts-Mills, J. A., Babji, S., Bodhidatta, L., Gratz, J., Haque, R., Havt, A., McCormick, B. J., McGrath, M., Olortegui, M. P., Samie, A., Shakoob, S., Mondal, D., Lima, I. F., Hariraju, D., Rayamajhi, B. B., Qureshi, S., Kabir, F., Yori, P. P., Mufamadi, B., Amour, C., ... MAL-ED Network Investigators (2015). Pathogen-

specific burdens of community diarrhoea in developing countries: a multisite birth cohort study (MAL-ED). *The Lancet. Global health*, 3(9), e564–e575.

Pontes, A. P. M. D., Cesso, R. G. D., Oliveira, D. C. D., & Gomes, A. M. T. (2009). O princípio de universalidade do acesso aos serviços de saúde: o que pensam os usuários?. *Escola Anna Nery*, 13(3), 500-507.

Prieto-Pérez, L., Pérez-Tanoira, R., Cabello-Úbeda, A., Petkova-Saiz, E., & Górgolas-Hernández-Mora, M. (2016). Geohelminths [Geohelminths]. *Enfermedades infecciosas y microbiología clinica*, 34(6), 384–389.

Pullan, R. L., Smith, J. L., Jasrasaria, R., & Brooker, S. J. (2014). Global numbers of infection and disease burden of soil transmitted helminth infections in 2010. *Parasites & vectors*, 7, 37.

Qi, M., Xi, J., Li, J., Wang, H., Ning, C., & Zhang, L. (2015). Prevalence of Zoonotic *Giardia duodenalis* Assemblage B and First Identification of Assemblage E in Rabbit Fecal Samples Isolates from Central China. *The Journal of eukaryotic microbiology*, 62(6), 810–814.

RITCHIE L. S. (1948). An ether sedimentation technique for routine stool examinations. *Bulletin of the U.S. Army Medical Department. United States. Army. Medical Department*, 8(4), 326.

Rogawski, E. T., Liu, J., Platts-Mills, J. A., Kabir, F., Lertsethtakarn, P., Siguas, M., Khan, S. S., Praharaaj, I., Murei, A., Nshama, R., Mujaga, B., Havt, A., Maciel, I. A., Operario, D. J., Taniuchi, M., Gratz, J., Stroup, S. E., Roberts, J. H., Kalam, A., Aziz, F., MAL-ED Network Investigators (2018). Use of quantitative molecular diagnostic methods to investigate the effect of enteropathogen infections on linear growth in children in low-resource settings: longitudinal analysis of results from the MAL-ED cohort study. *The Lancet. Global health*, 6(12), e1319–e1328.

Ryan, U., & Cacciò, S. M. (2013). Zoonotic potential of *Giardia*. *International journal for parasitology*, 43(12-13), 943–956.

Ryan, U., & Hijjawi, N. (2015). New developments in *Cryptosporidium* research. *International journal for parasitology*, 45(6), 367–373.

Ryan, U., Hijjawi, N., Feng, Y., & Xiao, L. (2019). *Giardia*: an under-reported foodborne parasite. *International journal for parasitology*, 49(1), 1–11.

Sadaow, L., Sanpool, O., Phosuk, I., Rodpai, R., Thanchomnang, T., Wijit, A., Anamnart, W., Laymanivong, S., Aung, W., Janwan, P., Maleewong, W., & Intapan, P. M. (2018). Molecular identification of *Ascaris lumbricoides* and *Ascaris suum* recovered from humans and pigs in Thailand, Lao PDR, and Myanmar. *Parasitology research*, 117(8), 2427–2436.

Saghaug, C. S., Sørnes, S., Peirasmaki, D., Svärd, S., Langeland, N., & Hanevik, K. (2015). Human Memory CD4+ T Cell Immune Responses against *Giardia lamblia*. *Clinical and vaccine immunology : CVI*, 23(1), 11–18.

Savioli, L., Smith, H., & Thompson, A. (2006). *Giardia* and *Cryptosporidium* join the 'Neglected Diseases Initiative'. *Trends in parasitology*, 22(5), 203–208.

Schnell, K. Collier, S. Derado, G. Yoder, J. Gargano, J. D. "Giardiasis in the United States - an epidemiologic and geospatial analysis of county-level drinking water and sanitation data, 1993-2010," *Journal of water and health*, vol. 14, no. 2, pp. 267–279, 2016.

Scott, ME (2008). *Ascaris lumbricoides*: uma revisão de sua epidemiologia e relação com outras infecções. *Annales Nestlé (ed. Inglesa)*, 66 (1), 7-22.

Seguí, R., Muñoz-Antoli, C., Klisiowicz, D. R., Oishi, C. Y., Köster, P. C., de Lucio, A., Hernández-de-Mingo, M., Puente, P., Toledo, R., Esteban, J. G., & Carmena, D. (2018). Prevalence of intestinal parasites, with emphasis on the molecular epidemiology of *Giardia duodenalis* and *Blastocystis* sp., in the Paranaguá Bay, Brazil: a community survey. *Parasites & vectors*, 11(1), 490.

Serra, C. M. B., Uchôa, C. M. A., & Coimbra, R. A. (2003). Exame parasitológico de fezes de gatos (*Felis catus domesticus*) domiciliados e errantes da Região Metropolitana do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 36(3), 331-334.

Simões, B., Machado-Coelho, G. L., Pena, J. L., & de Freitas, S. N. (2015). Condições ambientais e prevalência de infecção parasitária em indígenas Xukuru-Kariri, Caldas, Brasil [Environmental conditions and prevalence of parasitic infection in Xukuru-Kariri indigenous people, Caldas, Brazil]. *Revista panamericana de salud publica = Pan American journal of public health*, 38(1), 42–48.

Singer S. M. (2015). Control of Giardiasis by Interleukin-17 in Humans and Mice--Are the Questions All Answered?. *Clinical and vaccine immunology : CVI*, 23(1), 2–5.

Souza, D. L. Paleogenética e paleoepidemiologia de *Ascaris* sp. (Linnaeus, 1758) e *Trichuris* sp. (Roederer, 1761). 2010. 218f. Tese (Doutorado em Saúde Pública) - Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Rio de Janeiro, RJ, 2010.

Squire, S. A., & Ryan, U. (2017). *Cryptosporidium* and *Giardia* in Africa: current and future challenges. *Parasites & vectors*, 10(1), 195.

Sulaiman, I. M., Xiao, L., & Lal, A. A. (1999). Evaluation of *Cryptosporidium parvum* genotyping techniques. *Applied and environmental microbiology*, 65(10), 4431–4435.

Thompson R. C. (2000). Giardiasis as a re-emerging infectious disease and its zoonotic potential. *International journal for parasitology*, 30(12-13), 1259–1267.

Thompson, R., & Ash, A. (2019). Molecular epidemiology of *Giardia* and *Cryptosporidium* infections - What's new?. *Infection, genetics and evolution : journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*, 75, 103951.

Traversa D. (2011). Are we paying too much attention to cardio-pulmonary nematodes and neglecting old-fashioned worms like *Trichuris vulpis*?. *Parasites & vectors*, 4, 32.

Uchôa, C. M. A., de Albuquerque, M. C., de Carvalho, F. M., Falcão, A. O., da Silva, P., & Bastos, O. M. P. (2009). Parasitismo intestinal em crianças e funcionários de creches comunitárias da cidade de Niterói-RJ, Brasil. *Revista de Patologia Tropical/Journal of Tropical Pathology*, 38(4), 267-278.

Vasconcellos, M. C. D., Barros, J. S. L. D., & Oliveira, C. S. D. (2006). Parasitas gastrointestinais em cães institucionalizados no Rio de Janeiro, RJ. *Revista de Saúde Pública*, 40(2), 321-323.

Volotão, A. C., Costa-Macedo, L. M., Haddad, F. S., Brandão, A., Peralta, J. M., & Fernandes, O. (2007). Genotyping of *Giardia duodenalis* from human and animal samples from Brazil using beta-giardin gene: a phylogenetic analysis. *Acta tropica*, 102(1), 10–19.

von Huth, S., Kofoed, P. E., & Holmskov, U. (2019). Prevalence and potential risk factors for gastrointestinal parasitic infections in children in urban Bissau, Guinea-Bissau. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, trz032. Advance online publication.

World Health Organization (WHO). Working to overcome the global impact of neglected tropical diseases - First WHO report on neglected tropical diseases. Geneva: WHO; 2010.

Zahedi, A., Field, D., & Ryan, U. (2017). Molecular typing of *Giardia duodenalis* in humans in Queensland - first report of Assemblage E. *Parasitology*, 144(9), 1154–1161.

Zhu, X., Chilton, N. B., Jacobs, D. E., Boes, J., & Gasser, R. B. (1999). Characterisation of *Ascaris* from human and pig hosts by nuclear ribosomal DNA sequences. *International journal for parasitology*, 29(3), 469–478.

Zuccherato, L. W., Furtado, L. F., Medeiros, C., Pinheiro, C., & Rabelo, É. M. (2018). PCR-RFLP screening of polymorphisms associated with benzimidazole resistance in *Necator americanus* and *Ascaris lumbricoides* from different geographical regions in Brazil. *PLoS neglected tropical diseases*, 12(9), e0006766.

Zylberberg, H. M., Green, P. H., Turner, K. O., Genta, R. M., & Lebwohl, B. (2017). Prevalence and Predictors of *Giardia* in the United States. *Digestive diseases and sciences*, 62(2), 432–440.

8. APÊNDICES

Apêndice 1: Questionário socioeconômico

Data:
Código da Casa:
Latitude:
Longitude:

1. Nome do responsável familiar: _____
Endereço e telefone: _____
2. Sexo: () Masculino () Feminino
3. Idade _____
4. Escolaridade: () Analfabeto () Fundamental incompleto () Fundamental completo
() Ensino médio incompleto () Ensino médio completo () Nível superior
5. Renda: _____
6. Número de pessoas que dependem dessa renda _____
7. De onde vem a sua água? () poço () caminhão pipa () companhia de abastecimento () outros _____
8. De onde vem a água usada para beber? _____
9. É feito algum tratamento na água antes de beber? () não () sim Qual? _____
10. Onde os moradores da casa defecam? () banheiro dentro de casa () banheiro no quintal () no rio
() no mato () outros _____
11. Como é feito o tratamento das fezes? () fossa séptica () sistema de esgoto () outros _____
12. Possuem animais ao redor ou dentro da residência? () Não () Sim Que espécies? Quantos () gato ___
() cachorro ___ () galinha ___ () porco ___ () outros _____
13. Quantos cômodos há na casa?
14. Qual o tipo de piso da casa () chão batido (..)cimento (..)cerâmica
15. Faz exames de fezes regularmente? () não () sim Quantas vezes ao ano? _____
16. Algum profissional de saúde já conversou com você sobre o uso de medicamentos para verminoses?
() não () sim. Sobre o que vocês conversaram? _____
17. Teve alguma experiência com verminoses em seu bairro ou na creche que gostaria de relatar? _____

Morador Nº <input type="text"/>	Adulto ()	Criança ()	Código: <input type="text"/>	Sintomas: Dor de barriga () Diarreia () Vômito () Prisão de Ventre ()
Nome:				
Nome da Mãe (se criança):				
Data de nascimento:	Idade:	Sexo: F () M ()	Resultado do EPF:	
Peso:	Altura:			
Usa medicamento para verminoses mesmo sem realização de exame?	Sim () Não ()			

Morador Nº <input type="text"/>	Adulto ()	Criança ()	Código: <input type="text"/>	Sintomas: Dor de barriga () Diarreia () Vômito () Prisão de Ventre ()
Nome:				
Nome da Mãe (se criança):				
Data de nascimento:	Idade:	Sexo: F () M ()	Resultado do EPF:	
Peso:	Altura:			
Usa medicamento para verminoses mesmo sem realização de exame?	Sim () Não ()			

Morador Nº <input type="text"/>	Adulto ()	Criança ()	Código: <input type="text"/>	Sintomas: Dor de barriga () Diarreia () Vômito () Prisão de Ventre ()
Nome:				
Nome da Mãe (se criança):				
Data de nascimento:	Idade:	Sexo: F () M ()	Resultado do EPF:	
Peso:	Altura:			
Usa medicamento para verminoses mesmo sem realização de exame?	Sim () Não ()			

Apêndice 2. Artigo 1 "*Giardia duodenalis* Genotyping from Dogs and Cats in Brazil: A Reality Still Unknown"



Journal of
Dairy & Veterinary Sciences
ISSN: 2573-2196



Mini Review

Volume 10 Issue 3 - March 2019
DOI: 10.19080/JDVS.2019.10.555790

Dairy and Vet Sci J

Copyright © All rights are reserved by Maria Fantinatti

Giardia duodenalis Genotyping from Dogs and Cats in Brazil: A Reality Still Unknown



Phelipe Austriaco-Teixeira, Luiz Antonio Pimentel Lopes de Oliveira and Maria Fantinatti*

Laboratório Interdisciplinar de Pesquisas Médicas, Instituto Oswaldo Cruz - FIOCRUZ, Brazil

Submission: February 28, 2019; Published: March 07, 2019

*Corresponding author: Maria Fantinatti, Laboratório Interdisciplinar de Pesquisas Médicas, Instituto Oswaldo Cruz - FIOCRUZ, Rio de Janeiro/RJ, CEP 21040-360, Brazil

Mini Review

Giardia duodenalis is possibly the first known intestinal protozoan in man. However, there are still many issues to be understood, especially in the field of taxonomy, which, with molecular studies, have presented great advances in understanding the epidemiological characteristics of *G. duodenalis* infection. Giardiasis is considered a zoonosis of public health importance, since *G. duodenalis* can infect a broad spectrum of mammalian hosts, including humans and domestic animals [1,2]. Thus, measures to control giardiasis should consider the participation of animals in the transmission cycles [3]. Currently the *G. duodenalis* species is divided into eight assemblages, classified in A-H [1,2]. The *G. duodenalis* assemblages C and D are still considered host-specific for canines and the assemblage F for cats, although they have already been observed in other animal species [4-6]. Assemblages A and B get more prominence because they have high zoonotic potential and can be found in humans and other mammalian hosts, including dogs and cats. As interest in domestic animals

has grown in recent years and we have observed a growing humanization of dogs and cats, the existence of assemblages with affinity for humans and domestic animals (A and B) may support the occurrence of anthroponotic cycles inside the household [2,7].

In order to verify the distribution of *G. duodenalis* assemblages in companion animals in Brazil, we conducted a review based on an exploratory and descriptive bibliographic survey on the twenty-first of February 2019, with the main theme: "*Giardia duodenalis* assemblages circulating in dogs and cats in Brazil". It was used the electronic database Medical Literature Analysis and Retrieval System on-line (Medline). They were used as MeSH terms to delimit the search for:

- host: "dog" or "cat" or "pet";
- Etiological agent: "Giardia";
- Geographical area: "Brazil".

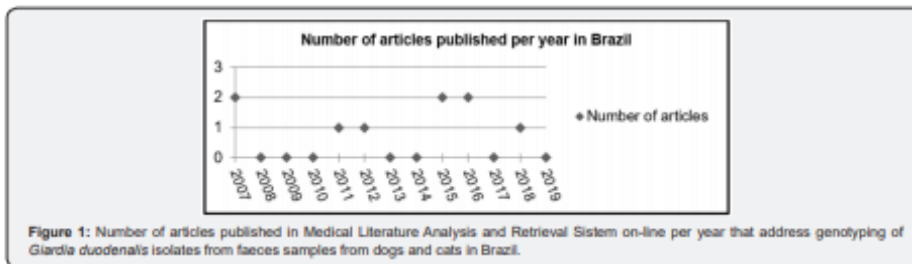


Figure 1: Number of articles published in Medical Literature Analysis and Retrieval System on-line per year that address genotyping of *Giardia duodenalis* isolates from faeces samples from dogs and cats in Brazil.

To combine terms, we used standard Boolean operators. We obtained the following search strategy: (((dog or cat) or pet) AND Giardia) AND (assemblage OR genotype) AND brazil. For the selection of manuscripts was used as inclusion

criteria: articles retrieved in full and articles published in english. Twelve articles were found published. Two studies were excluded because genotyped a single *G. duodenalis* strain for laboratory experiments and one study did not succeed in

the gene amplification and genotyping of the isolates from fecal animal samples. Among the selected studies, seven carried out genotyping of *G. duodenalis* isolated from only dog samples and two from dog and cat samples. The low number of studies found highlight show that the distribution of *G. duodenalis* assemblages in Brazil still poorly understood. The study of dog and cat samples genotyping in Brazil is recent, the first one was carried out in 2007 [8]. And there is a low frequency of publications on the subject per year (Figure 1).

The genotyping tools used are still limited to establishing transmission routes. The main methodology used for genotyping was gene sequencing that was addressed in 8/9 articles found in this review [8-15]. The PCR-RFLP was used in three articles [10,11,16], and was used as a single characterization methodology in only one study [16]. For *G. duodenalis* genotyping, the following gene targets were used: *β-gia*, *gdh* and *tpi*. In Brazil, studies until the year 2011 used a single gene for characterization and from 2012 studies became multi-locus. The use of more than one gene is recommended, however it is not uncommon to observe

different groupings between the targets used [2].

The Brazilian territory is composed of 26 states and a federal district, distributed in five regions (North, Northeast, Midwest, Southeast and South) (Figure 2). Of the nine studies selected in this review using dogs feces samples, two were performed in the Southern region (Paraná and Santa Catarina) and seven in the Southeast region (four in São Paulo, two in Rio de Janeiro and one in Minas Gerais). The other 21 states and the federal district still lack studies on the subject. In *G. duodenalis* isolates from the dog samples, assemblages A, B, C, D or E were found. In São Paulo, studies from 2007 and 2012 identified, using the *gdh* gene, only the host-specific assemblage (C and D) in domestic, wandering or kennel dogs [9,11]. However, Volotão and co-workers using the *β-gia* gene in 2011 reported only circulation of assemblage A. Although the stool samples were obtained in the same state, the sample collection site is about 450km. The study by David [13] corroborates the circulation of assemblage with zoonotic (A) and non-zoonotic (C and D) potential in São Paulo.



Figure 2: Illustrative map of the *Giardia duodenalis* assemblage's distribution from dogs in Brazil, according to the target used for genotyping. A: *G. duodenalis* genotyping using *gdh* target; B: *G. duodenalis* genotyping using *β-gia* target; C: *G. duodenalis* genotyping using *tpi* target. The balloons are classified by color according to the assemblage. Orange: assemblage A; Yellow: assemblage B; Blue: assemblage C; Green: assemblage D; Purple: assemblage E.

In Rio de Janeiro, Volotão et al. [8] verified the assemblage A infecting dogs and, after 11 years, Fantinatti & collaborators [15] verified circulation of the same assemblage, suggesting the maintenance of this assemblage in the environment. The only study carried out in Santa Catarina identified the circulation of assemblages A, B and C in dogs by PCR-RFLP (*gdh* target) [16]. The other study carried out in the Southern region, Paraná, using the *gdh* and *β-gia* gene targets, verified the circulation of assemblages B, C and D [12]. The identification of assemblages with zoonotic potential found by the authors in dogs and in humans suggests that anthrozoönotic cycles may be occurring within household.

The *G. duodenalis* genotyping from dogs of commercial kennels in Minas Gerais using the *gdh* target identified the assemblage D circulating among the animals. However, the data were not corroborated by *tpi* target, in which the sequences were grouped in assemblages A, B, C and E, and none in assemblage

D. Identification of host-specific assemblages for canines at dog agglomeration sites points to the possibility of dissemination among all the animals of the place. Since *G. duodenalis* infection can lead to compromised animal health, the circulation of this protozoan in commercial kennels can have an economic impact, where animals are sold mainly puppies. On the other hand, dogs acquired and infected by zoonotic assemblages raises the possibility of carrying *Giardia* cysts to the residence and promoting transmission routes between their owner and other animals of the household.

The two genotyping studies of *G. duodenalis* isolates from cat specimens date back to 2007, demonstrating that there have been no studies on the subject in Brazil for more than a decade [8,9]. Both were concentrated in the Southeast region (Rio de Janeiro and São Paulo), demonstrating a lack of knowledge about the genotypes of *G. duodenalis* circulating in cats in the other four regions of Brazil. Volotão & collaborators [8] genotyped a single

cat sample from Rio de Janeiro and identified genotype A, while in São Paulo, Souza [9] described the circulation of genotypes A and F in 19 cats. Both studies highlight the possibility of anthrozootic cycles, since samples of dogs, humans or cattle parasitized with *G. duodenalis* of genotype A were also evaluated.

The literature review indicates there is no possible to determine the epidemiology of *G. duodenalis* assemblages in domestic animals in Brazil, mainly in cats, because the studies are scarce, punctual and characterize a low number of samples. The few territories studied are concentrated in the regions with the highest Human Development Index in the country and demonstrate the circulation of assemblages with zoonotic potential. Since giardiasis is a disease that can cause harm to companion animals and their owners, it is essential that more studies be carried out in Brazil in order to elucidate how the zoonotic transmission route of *G. duodenalis* in different regions of the country behaves.

The elucidation of assemblages and zoonotic transmission routes could promote new measures aimed at prophylaxis and the treatment of giardiasis in the veterinary and public health field. Thus, the identification of transmission routes of the parasite represents a strategic tool to reduce the giardiasis incidence in the country, as well as to save costs related to treatment and, above all, to guarantee the life quality of humans and animals.

Acknowledgement

Phelipe Austriaco-Teixeira and Luiz Antonio Pimentel Lopes de Oliveira contributed equally to the production of the manuscript.

References



1. Adams RD (2001) Biology of *Giardia lamblia*. Clin Microbiol Rev 14: 447-475.
2. Feng Y, Xiao L (2011) Zoonotic potential and molecular epidemiology of *Giardia* species and giardiasis. Clin Microbiol Rev 24: 110-140.
3. Fantinatti M (2019) Zoonotic potential of *Giardia lamblia* and control of giardiasis. Insights in Veterinary Science 3: 1-4.
4. Mayrhofer G, Andrews RH, Ey PL, Chilton NB (1995) Division of *Giardia* isolates from humans into two genetically distinct assemblages by electrophoretic analysis of enzymes encoded at 27 loci and comparison with *Giardia muris*. Parasitology 111: 11-17.
5. Hopkins RM, Meloni BP, Groth DM, Wetherall JD, Reynoldson JA, et al. (1997) Ribosomal RNA sequencing reveals differences between the genotypes of *Giardia* isolates recovered from humans and dogs living in the same locality. J Parasitol 83: 44-51.
6. Monis PT, Andrews RH, Mayrhofer G, Mackrill J, Kaldia J, et al. (1998) Novel lineages of *Giardia intestinalis* identified by genetic analysis of organisms isolated from dogs in Australia. Parasitology 116: 7-19.
7. Walsh F (2009) Human-animal bonds I: the relational significance of companion animals. Fam Process 48: 462-480.
8. Volotão AC, Costa-Macedo LM, Haddad FS, Brandão A, Peralta JM, et al. (2007) Genotyping of *Giardia duodenalis* from human and animal samples from Brazil using beta-giardin gene: a phylogenetic analysis. Acta Trop 102: 10-19.
9. Souza SL, Gennari SM, Richtzenhain LJ, Pena HF, Funada MR, et al. (2007) Molecular identification of *Giardia duodenalis* isolates from humans, dogs, cats and cattle from the state of São Paulo, Brazil, by sequence analysis of fragments of glutamate dehydrogenase (*gdh*) coding gene. Vet Parasitol 149: 258-264.
10. Volotão AC, Ramos NM, Fantinatti M, Moraes MV, Netto HA, et al. (2011) Giardiasis as zoonosis: between proof of principle and paradigm in the Northwestern region of São Paulo State, Brazil. Braz J Infect Dis 15: 382-383.
11. Paz e Silva FM, Monobe MM, Lopes RS, Araujo JP (2012) Molecular characterization of *Giardia duodenalis* in dogs from Brazil. Parasitol Res 110: 325-334.
12. Colli CM, Bezajio RC, Nishi L, Bignotto TS, Ferreira EC, et al. (2015) Identical assemblage of *Giardia duodenalis* in humans, animals and vegetables in an urban area in southern Brazil indicates a relationship among them. Plosone 10: e0118065.
13. David EB, Guimarães S, de Oliveira AP, Goulart de Oliveira-Sequeira TC, Nogueira Bittencourt G, et al. (2015) Molecular characterization of intestinal protozoa in two poor communities in the State of São Paulo, Brazil. Parasit Vectors 8: 103.
14. Fava NM, Soares RM, Scalia LA, Cunha MJ, Faria ES, et al. (2016) Molecular typing of canine *Giardia duodenalis* isolates from Minas Gerais, Brazil. Exp Parasitol 161: 1-5.
15. Fantinatti M, Caseca AC, Bello AR, Fernandes Q, Da-Cruz AM (2018) The presence of *Giardia lamblia* assemblage A in dogs suggests an anthrozootic cycle of the parasite in Rio de Janeiro, Brazil. Infect Genet Evol 65: 265-269.
16. Quadros RM, Weiss PH, Marques SM, Miletto LC (2016) Potential cross-contamination of similar *Giardia duodenalis* assemblage in children and pet dogs in southern Brazil, as determined by PCR-RFLP. Rev Inst Med Trop São Paulo 58: 66.

Apêndice 3. Artigo 2 "Giardiasis Alters Intestinal Fatty Acid Binding Protein (I-ABP) and Plasma Cytokines Levels in Children in Brazil"



Article

Giardiasis Alters Intestinal Fatty Acid Binding Protein (I-FABP) and Plasma Cytokines Levels in Children in Brazil

Tiara Cascais-Figueiredo ^{1,3}, Felipe Austriaco-Teixeira ^{1,4}, Maria Fantinatti ¹, Maria Luciana Silva-Freitas ¹, Joanna Reis Santos-Oliveira ^{1,2,3}, Camila H. Coelho ^{4,5} , Steven M. Singer ⁵  and Alda Maria Da-Cruz ^{1,3,6,*}

¹ Laboratório Interdisciplinar de Pesquisas Médicas, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Rio de Janeiro 21040-900, Brazil; tiara_ted@hotmail.com (T.C.-F.);

phelipe.teixeira@ioc.fiocruz.br (P.A.-T.); fantinatti@ioc.fiocruz.br (M.F.); maria.freitas@ioc.fiocruz.br (M.L.S.-F.); joanna.oliveira@ifrj.edu.br (J.R.S.-O.)

² Núcleo de Ciências Biomédicas Aplicadas, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia (IFRJ), Rio de Janeiro 20061-002, Brazil

³ National Institute of Science and Technology on Neuroimmunomodulation (INCT-NIM), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Brasília 71605-001, Brazil

⁴ Laboratory of Malaria Immunology and Vaccinology, National Institutes of Allergy and Infectious Diseases, National Institutes of Health, Bethesda, MD 20892, USA; camila.coelho@nih.gov

⁵ Biology Department, Georgetown University, Washington, DC 20057, USA; steven.singer@georgetown.edu

⁶ Disciplina de Parasitologia-DMIP, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro 20550-170, Brazil

* Correspondence: alda@ioc.fiocruz.br

† Contributed equally to the work.

Received: 20 September 2019; Accepted: 20 October 2019; Published: 19 December 2019



Abstract: Giardiasis is an intestinal infection caused by ingestion of water or food contaminated with cysts of *Giardia lamblia*. Susceptibility is higher in children and overall prevalence can reach up to 90% in low-income areas, although outbreaks are also reported in developed countries. Both parasite and immune-mediated epithelial damage has been observed in vitro and in animal models. However, whether enterocytes are directly damaged during infection is not entirely known. Our goal was to identify whether plasma levels of intestinal fatty acid binding protein (I-FABP), a marker of enterocyte damage, are related to the immune response in giardiasis. Blood plasma was collected from 31 children (19 *Giardia*-positive) from a public day care in Rio de Janeiro, Brazil. The levels of I-FABP were increased in *Giardia*-infected children compared to children without detectable infection. There was no difference in I-FABP levels in giardiasis caused by different genetic assemblages of *Giardia*. Levels of IL-8 were decreased, while there was a trend to elevated IL-17 in the *Giardia*-positive children. A positive correlation was observed between I-FABP and IL-17 levels as well as TNF, suggesting that epithelial damage can be related to cytokine production during giardiasis. These results help elucidate the relationship between the disruption of the intestinal mucosal barrier and immune responses to *G. lamblia* in children.

Keywords: *Giardia lamblia*; giardiasis; children; I-FABP; cytokines; IL-17; *Giardia* assemblages

1. Introduction

Giardiasis is a worldwide intestinal infectious disease caused by transmission of water or food contaminated with cysts of *Giardia lamblia*, and exhibits both anthroponotic and zoonotic transmission. The real incidence of giardiasis is likely underestimated, since asymptomatic and even symptomatic

patients frequently do not seek care. In addition, the low sensitivity of microscopic detection methods, commonly utilized in middle and low-income areas, further contributes to underreporting. Global initiatives examining the etiology of diarrhea identified *Giardia* as the second most common pathogen detected among children 12–24 months old [1] and one of the top four contributors to stunting, globally [2]. In Brazil, we showed that the prevalence of *Giardia* can reach 78% [3].

Eight assemblages of *G. lamblia* (A to H) have been described based on genetic differences. Assemblages A and B are the most commonly found in humans, although both also infect a variety of animals. Our group has previously identified assemblage E in humans [4], but there is no conclusive evidence of a correlation between clinical outcome or parasite burden and assemblage.

Giardia trophozoites colonize the luminal surface of the small intestine and attach to intestinal epithelial cells (IEC). Disease is thought to occur due to damage to the epithelial barrier, mediated by both the parasite and the immune response. The disruption of tight junctions, shortening of microvilli, epithelial permeability and altered intestinal motility have all been observed [5]. Several studies have analyzed cytokines in murine giardiasis, and a consensus has formed on the importance of IL-17 for protective immunity [6]. In adult human patients who recovered from giardiasis, IL-17 was upregulated when effector memory CD4⁺ T cells were restimulated in vitro with *Giardia* antigens [7]. However, roles for other cytokines in pathogenesis of giardiasis are much less clear, and few studies have addressed this issue in humans [8,9].

Giardia-secreted metabolites [10] along with cytokines and cytotoxic T cell responses are related to epithelial damage and the apoptosis of enterocytes [11]. However, whether enterocytes are directly damaged is not known. Intestinal fatty acid binding protein (I-FABP) is an intracellular protein that acts on the metabolism of long chain fatty acids and is abundantly expressed in the cytosol of epithelial cells in the small intestinal mucosa. Increased plasma levels of I-FABP have been associated with intestine-specific injury in several diseases [12]; however, studies of I-FABP in giardiasis are lacking.

Our goal was to identify whether enterocyte damage is connected to alterations in immune responses in children living in a low-income setting. Here, we show that plasma I-FABP levels are increased in *Giardia*-infected children and that there is a correlation between I-FABP levels and systemic cytokine levels. However, we did not observe any relationship with a specific *Giardia* genetic assemblage.

2. Results

2.1. Clinical and Hematological Profiles of *Giardia* *Lamblia*-Infected Children

In an observational study performed in a government-run day care in Rio de Janeiro city, we identified 19 children infected with *G. lamblia* and 12 without laboratory evidence of intestinal parasites. The assemblages of *G. lamblia* identified were A ($n = 11$), B ($n = 6$) and E ($n = 2$).

Alteration in normal stool consistency was a frequent occurrence among day care children. Thus, no association between diarrhea and infection by *G. lamblia* could be established. The children's anthropometric statuses, evaluated according to the WHO Z scores (length for age, weight for age and weight for length), showed that 28 out of 33 children were eutrophic, but only two of them were underweight.

The mean levels of hemoglobin in *Giardia*-positive preschoolers (11.50 g/dL (11.10–12.20 g/dL)) were similar to *Giardia*-negative (11.90 g/dL (11.28–12.53 g/dL)). Only one *Giardia*-negative child presented with moderate anemia. Similar results were observed for the other hematological parameters related to anemia. To investigate a possible influence of *G. lamblia* on immune cells we assessed leukocyte profiles. No differences were observed for lymphocyte, neutrophil or monocyte counts when *Giardia*-positive and *Giardia*-negative groups were compared. Seven out of 19 *Giardia*-positive children presented mildly increased eosinophil counts, and four out of 12 *Giardia*-negative children showed mild or moderate increases ($p = 0.80$) (Table 1).

patients frequently do not seek care. In addition, the low sensitivity of microscopic detection methods, commonly utilized in middle and low-income areas, further contributes to underreporting. Global initiatives examining the etiology of diarrhea identified *Giardia* as the second most common pathogen detected among children 12–24 months old [1] and one of the top four contributors to stunting, globally [2]. In Brazil, we showed that the prevalence of *Giardia* can reach 78% [3].

Eight assemblages of *G. lamblia* (A to H) have been described based on genetic differences. Assemblages A and B are the most commonly found in humans, although both also infect a variety of animals. Our group has previously identified assemblage E in humans [4], but there is no conclusive evidence of a correlation between clinical outcome or parasite burden and assemblage.

Giardia trophozoites colonize the luminal surface of the small intestine and attach to intestinal epithelial cells (IEC). Disease is thought to occur due to damage to the epithelial barrier, mediated by both the parasite and the immune response. The disruption of tight junctions, shortening of microvilli, epithelial permeability and altered intestinal motility have all been observed [5]. Several studies have analyzed cytokines in murine giardiasis, and a consensus has formed on the importance of IL-17 for protective immunity [6]. In adult human patients who recovered from giardiasis, IL-17 was upregulated when effector memory CD4⁺ T cells were restimulated in vitro with *Giardia* antigens [7]. However, roles for other cytokines in pathogenesis of giardiasis are much less clear, and few studies have addressed this issue in humans [8,9].

Giardia-secreted metabolites [10] along with cytokines and cytotoxic T cell responses are related to epithelial damage and the apoptosis of enterocytes [11]. However, whether enterocytes are directly damaged is not known. Intestinal fatty acid binding protein (I-FABP) is an intracellular protein that acts on the metabolism of long chain fatty acids and is abundantly expressed in the cytosol of epithelial cells in the small intestinal mucosa. Increased plasma levels of I-FABP have been associated with intestine-specific injury in several diseases [12]; however, studies of I-FABP in giardiasis are lacking.

Our goal was to identify whether enterocyte damage is connected to alterations in immune responses in children living in a low-income setting. Here, we show that plasma I-FABP levels are increased in *Giardia*-infected children and that there is a correlation between I-FABP levels and systemic cytokine levels. However, we did not observe any relationship with a specific *Giardia* genetic assemblage.

2. Results

2.1. Clinical and Hematological Profiles of *Giardia* *Lamblia*-Infected Children

In an observational study performed in a government-run day care in Rio de Janeiro city, we identified 19 children infected with *G. lamblia* and 12 without laboratory evidence of intestinal parasites. The assemblages of *G. lamblia* identified were A ($n = 11$), B ($n = 6$) and E ($n = 2$).

Alteration in normal stool consistency was a frequent occurrence among day care children. Thus, no association between diarrhea and infection by *G. lamblia* could be established. The children's anthropometric statuses, evaluated according to the WHO Z scores (length for age, weight for age and weight for length), showed that 28 out of 33 children were eutrophic, but only two of them were underweight.

The mean levels of hemoglobin in *Giardia*-positive preschoolers (11.50 g/dL (11.10–12.20 g/dL)) were similar to *Giardia*-negative (11.90 g/dL (11.28–12.53 g/dL)). Only one *Giardia*-negative child presented with moderate anemia. Similar results were observed for the other hematological parameters related to anemia. To investigate a possible influence of *G. lamblia* on immune cells we assessed leukocyte profiles. No differences were observed for lymphocyte, neutrophil or monocyte counts when *Giardia*-positive and *Giardia*-negative groups were compared. Seven out of 19 *Giardia*-positive children presented mildly increased eosinophil counts, and four out of 12 *Giardia*-negative children showed mild or moderate increases ($p = 0.80$) (Table 1).

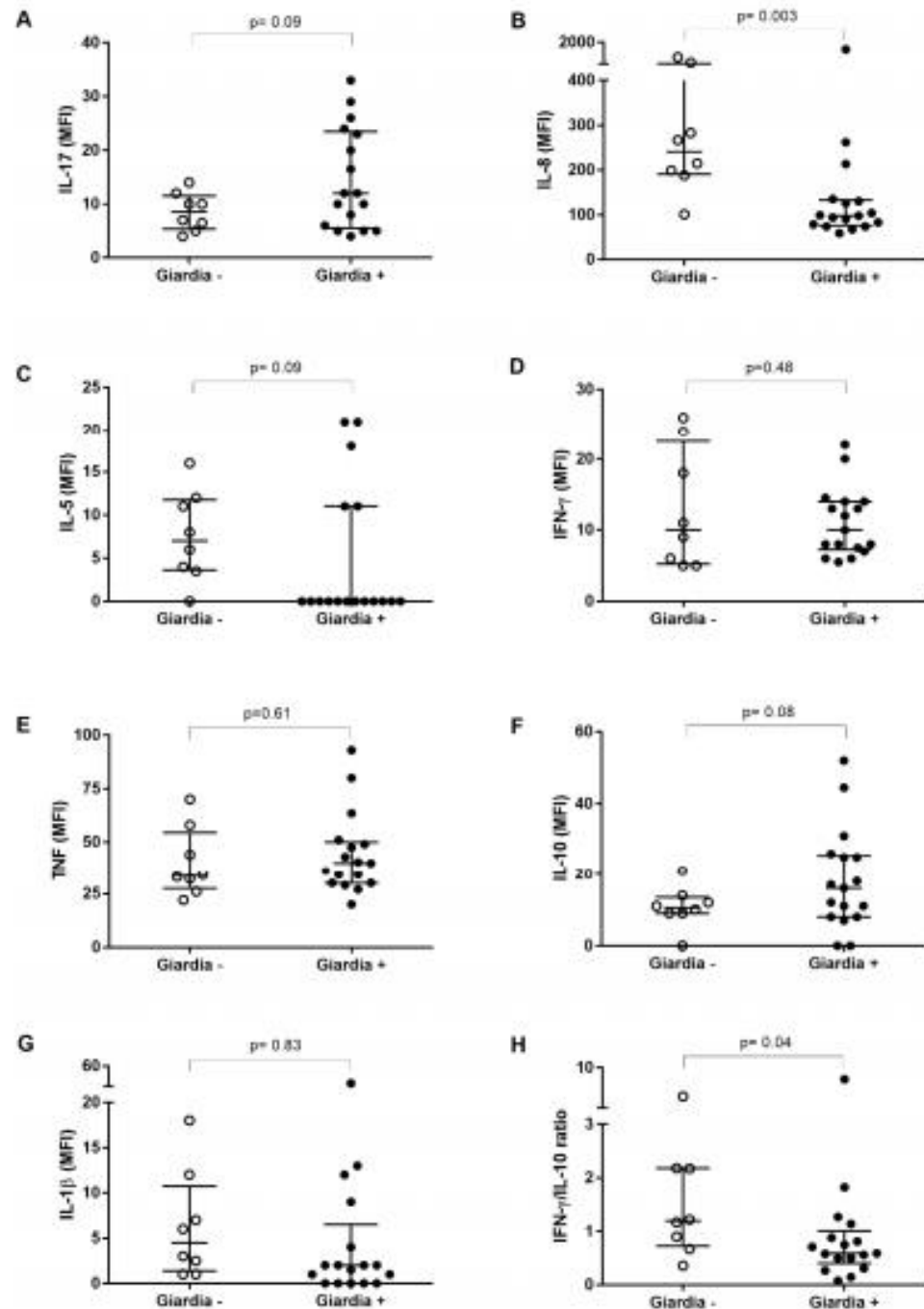


Figure 1. The cytokine profiles of *Giardia lamblia*-infected children from a Brazilian area. Plasma levels of (A) IL-17, (B) IL-8, (C) IL-5, (D) IFN- γ , (E) TNF, (F) IL-10 and (G) IL-1 β in children with giardiasis were determined using Luminex beads. The IFN- γ /IL-10 ratio (H) is also shown. Each point corresponds to one subject. Results are expressed as median fluorescence intensity (MFI). Medians (horizontal bars), quartiles (range 25–75%) and results of Mann–Whitney statistical tests are shown.

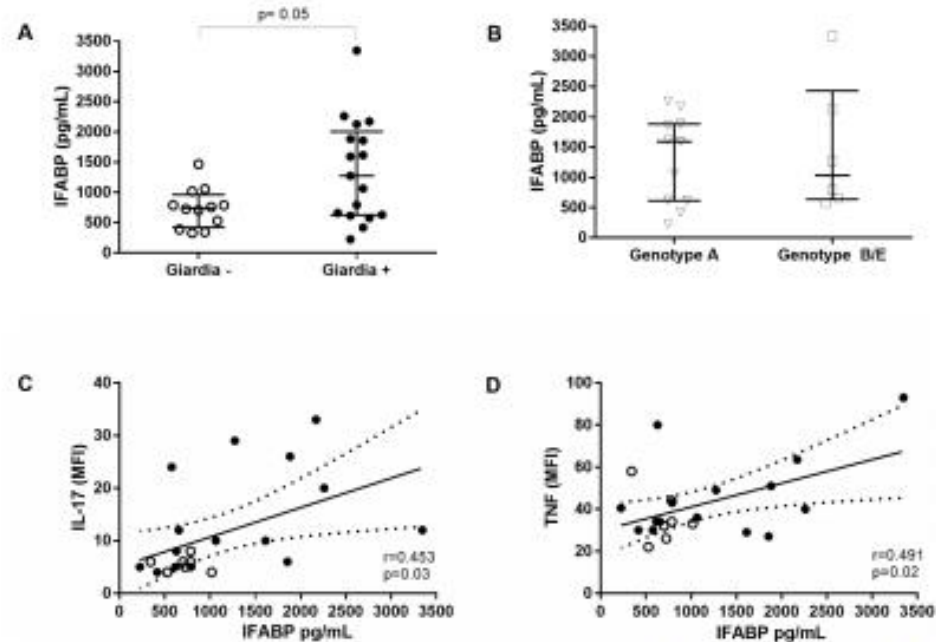


Figure 2. Intestinal fatty acid binding protein (I-FABP) levels and the correlation with systemic cytokine profiles and assemblages in *Giardia*-infected children in a Brazilian area. (A) I-FABP levels are increased in *G. lamblia*-infected pre-schools children. (B) Different assemblages (A, B or E) of *G. lamblia* are not associated to I-FABP levels. Correlation between I-FABP and IL-17 (C) or TNF (D) levels. Levels of I-FABP were elevated in *Giardia*-positive subjects (●) in comparison to *Giardia*-negative (○). Each point represents one subject. The horizontal bars indicate the median values and vertical bars indicate interquartile ranges (25–75%).

Considering the high variation observed among all the parameters analyzed, we investigated which factors were influencing the elevated I-FABP levels by using a multivariate linear regression analysis. The model showed a trend that *Giardia* infection influenced I-FABP levels ($p = 0.071$) (Table 2), supporting an association between enterocyte damage and giardiasis. This correlation was independent of the levels of cytokines.

Table 2. Multivariate linear regression analysis to evaluate the association between the levels of intestinal fast acid bound protein (I-FABP) and independent variables (cytokines) in *Giardia*-positive preschoolers.

Independent Variables	Dependent Variable I-FABP Levels (pg/mL)		
	Coef ¹	SE ²	P
<i>Giardia</i> infection (positive or negative)	0.396	321.88	0.071
IL-17 *	0.227	18.86	0.349
TNF *	0.437	9.80	0.135
IL-8 *	−0.045	0.55	0.833
IL-10 *	−0.341	14.29	0.215

¹ Coef—Correlation coefficient; ² SE—standard error; * MFI—median fluorescence intensity; IL—interleukin, TNF—tumor necrosis factor, I-FABP—intestinal fast acid bound protein.

3. Discussion

The major findings of this study are that children infected with *Giardia* exhibited elevated plasma levels of IL-17 and reduced levels of IL-8 compared with children not infected with intestinal parasites.

Infected children also had lower IFN- γ /IL-10 ratios and elevated levels of I-FABP that correlated with both IL-17 and TNF. The increase in I-FABP levels, however, was not related to the specific assemblage of *Giardia* with which they were infected.

Elevated in vitro IL-17 responses have been reported in a cohort of adult travelers returning to Denmark with giardiasis [7] and IL-17 has been shown to be essential for proper control of *G. muris* and *G. lamblia* infections in mice [6]. This is the first report of which we are aware showing IL-17 production in children with giardiasis.

Interleukin-8 is a chemokine that recruits neutrophils to sites of infection and inflammation. Recent work has indicated that proteases secreted by *Giardia* are able to degrade IL-8 in vitro [14]. Moreover, granulocyte responses after intracolonic administration of *C. difficile* toxin were attenuated in mice infected with *G. lamblia* strain NF [15]. This is the first report, to our knowledge, of reduced systemic levels of IL-8 in giardiasis. It would be interesting to determine if mucosal cytokine levels are also diminished.

Interferon- γ is a cytokine often associated with immunopathology of giardiasis. In a study of patients in Iran, symptomatic patients had higher levels of IFN- γ than uninfected controls, while patients with asymptomatic infections did not [8]. We were unable to classify the *Giardia*-infected children in this study as being symptomatic or asymptomatic. Nevertheless, we found a reduced ratio of IFN- γ /IL-10 in the infected children. This is consistent with the lack of inflammation often reported in giardiasis.

While giardiasis has previously been shown to impact epithelial permeability [5], specifically, lactulose:mannitol test ratios, other markers of intestinal damage, have not been widely addressed in this infection. Our results are the first to indicate that children with *Giardia* infections have elevated levels of I-FABP, a marker for epithelial cell damage. Moreover, although I-FABP levels were independent of the genetic assemblage of *Giardia* present, they did correlate with plasma levels of both IL-17 and TNF. This correlation could indicate that immune responses themselves contribute to the epithelial damage observed or could reflect that epithelial damage facilitates the induction of the Th17 developmental program resulting in both IL-17 and TNF production. Unfortunately, our data were unable to determine a causal relationship between these cytokines and I-FABP levels.

Our study suffers from several limitations. First, limited access to additional biological samples prevents drawing extensive conclusions about the patterns observed and a larger cohort should be used to confirm these observations. We did not perform systematic surveillance on diarrhea status, although alteration in stool consistency was frequently noted among the children studied. While we were able to exclude concurrent parasitic infections and only *Giardia*-infected children were enrolled, we did not evaluate whether bacterial or viral infections were present that could also contribute to systemic levels of cytokines and/or I-FABP. Finally, because of the cross-sectional study design we were unable to determine whether the children enrolled in the study had been previously infected with *Giardia*, since a secondary immune response could lead to much greater cytokine production.

In summary, our data provides novel information on levels of cytokines and I-FABP in children with giardiasis and suggests a link between mucosal damage and the immune response. Further studies to identify the mechanisms underlying this correlation are needed.

4. Material and Methods

4.1. Study Design and Participants and Ethical Aspects

The cross-sectional study was conducted in a community (urban slum) of Rio de Janeiro, Brazil in 2015, from February to December. The area has a limited drinking water supply, no sewage network coverage and few streets are paved. Stray animals, such as dogs, cats, rodents, pigs, horses and cattle are commonly found moving throughout the location. The majority of inhabitants are from the low socioeconomic strata.

For the selection of preschoolers infected by *G. lamblia* (*Giardia*-positive) or not (*Giardia*-negative), stool samples were obtained from 105 children (ages varying from 10 months to four years) and used in parasitological and PCR assays for the detection of *Giardia* DNA. A collection device accompanied by instructions was provided for the guardians of children and nursery volunteers. One stool sample from each participant was examined for intestinal protozoa and helminths by three methods: Ritchie, Kato–Katz and spontaneous sedimentation. Children infected or co-infected by other pathogenic intestinal protozoa or helminths were excluded. Thirty-one children (19 *Giardia*-positive and 12 *Giardia*-negative) were selected for the study. The subjects were evaluated for anthropometric parameters. Standard deviation scores (Z-scores) of weight-for-height (WHZ), length-for-age (LAZ) and weight-for-age (WAZ) were calculated according to the World Health Organization's 1978 growth chart. Blood was submitted to hematological exams. Plasma samples were separated, and aliquots were stored at -70°C for immunological analysis.

All procedures were approved by the ethics committee for human research (Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ, Brazil, CAAE: 19705613.9.0000.5248). Biological samples were collected after informed consent was obtained from the guardians of the children.

4.2. Molecular Detection and Characterization of *Giardia Lamblia*

The stool DNA extraction was conducted using the QIAmp DNA Stool Mini Kit (Qiagen GmbH, Germany), with modifications [3]. Conserved gene fragments from glutamate dehydrogenase (*gdh*) and beta-giardin (*βgia*) were amplified by polymerase chain reaction (PCR) using the primers previously reported [3]. The amplicons obtained for each pair of primers were purified using the NucleoSpin®Gel and PCR Clean-up kit (Macherey-Nagel GmbH and Co. KG, Germany). The purified products were sequenced using the ABI Prism™ BigDye Terminator Cycle Sequencing kit. Electropherograms were analyzed using Chromas 2.4 (Technelysium Pty Ltd., South Brisbane, Australia). Characterization of the sequences was performed using the Basic Local Alignment Search Tool for nucleotides (BLASTn), and the contigs were obtained by the CAP3 Sequence Assembly Program. Nucleotide sequences of *gdh* and *βgia* were aligned by the CLUSTAL W algorithm from Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) output 7.0. The phylogenetic analysis was performed on the MEGA and the range estimation equations used were JIN and NEI (Kimura 2-parameter model). Phylogenetic trees were constructed using the neighbor-joining algorithm, with bootstrap analysis (1000 replicates). The sequences from the new isolates were aligned using reference sequences of *G. lamblia* from GenBank. The sequences obtained were deposited in GenBank: genotype A (*gdh*: MN541586, MN541659, MN541674, MN5416956, MN541648, MN541661, MN541666, MN541658, MN541657 and MN541804; *βgia*: MN541703, MN541775, MN541806, MN541790, MN541772, MN541764, MN541777, MN541782, MN541774, MN541773 and MN541804); genotype B (*gdh*: MN541687, MN541686, MN541643, MN541684, MN541678 and MN541668; *βgia*: MN541803, MN541802, MN541759, MN541800, MN541794 and MN541784), genotype E (*gdh*: MN541650 and MN541637; *βgia*: MN541766 and MN541754)

4.3. Quantification of Intestinal Fatty Acid Binding Protein (I-FABP) and Cytokines in Plasma

I-FABP levels were determined by ELISA (Duo Set; R&D Systems, Minneapolis, MN, USA). The results were expressed as pg/mL, and the minimum detection limit was 31.2 pg/mL.

For cytokine measurement, a multiplex biometric immunoassay containing fluorescently dyed microbeads was used (BioRad Laboratories, Hercules, CA, USA). The following cytokines were quantified: IFN- γ , TNF, IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17, MCP-1 and MIP-1 β . Cytokine levels were calculated by Luminex Technology (Bio-Plex Workstation; Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA). The analysis of data was performed using software provided by the manufacturer (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA). A range of 0.51–8000 pg/mL of recombinant cytokines was used to establish standard curves and the sensitivity of the assay. The results were expressed as the median fluorescent intensity (MFI) [16].

4.4. Statistical Analyses

Statistical analyses were performed using GraphPad Prism software (version 7.0, San Diego, CA, USA). Mann–Whitney tests were performed for comparisons between two groups. A Student's *t*-test was additionally used when Mann–Whitney tests indicated a trend and the data were normally distributed. The Spearman test was used for correlation analysis and Pearson's test was used for correlation matrix analysis. Continuous variables were expressed as medians and interquartile ranges (IQRs). Differences were considered statistically significant when a *p*-value was equal or below 0.05. Multivariate linear regression analyses (software IBM SPSS, version 22.0, IBM, USA) were used to determine the influence of intervening variables on the levels of I-FABP. *Giardia* infection (positive or negative) and MFI levels of cytokines were considered as independent variables.

Supplementary Materials: The following are available online at <http://www.mdpi.com/2076-0817/9/1/7/s1>, Table S1: Cytokines and chemokines profile in plasma of children infected by *Giardia lamblia*.

Author Contributions: Conceptualization, A.M.D.-C., M.F. and J.R.S.-O.; Methodology, T.C.-F., P.A.-T., M.L.S.-F. and J.R.S.-O.; Formal analysis, A.M.D.-C., J.R.S.-O. and C.H.C.; Writing—original draft preparation, A.M.D.-C., C.H.C. and S.M.S.; Writing—review and editing, A.M.D.-C., C.H.C. and S.M.S.; Funding acquisition, A.M.D.-C. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This work was supported by the Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ—Brazilian Ministério da Saúde (internal funds). M.F. was supported by a fellowship from CAPES (Brasil Sem Miséria/Brazilian governmental program) and CNPq (PDJ). A.M.D.-C. has a research fellowship from CNPq and FAPERJ (CNE). C.H.C. is supported by the Intramural Research Program of the National Institute of Allergy and Infectious Diseases. S.M.S. is supported by a grant from the National Institute of Allergy and Infectious Diseases.

Acknowledgments: We are profoundly grateful to Elizabeth Salgado and the nursery team, for their unconditional support for the recruitment of children; to technicians from the Disciplina de Parasitologia-FCM-UERJ for the stool parasitological exams; and to Laboratório Bronstein, unidade Soeñs Pena, for their support during blood collection. We thank Elisângela Silva (UFRJ) and Zilton Vasconcelos (IFF/FIOCRUZ) for their support for cytokine quantification, and also to Felipe Carvalho-Costa for assistance with statistical analysis.

Conflicts of Interest: The authors have declare no conflict of interest.

References

1. Platts-Mills, J.A.; Babji, S.; Bodhidatta, L.; Gratz, J.; Haque, R.; Havt, A.; McCormick, B.J.; McGrath, M.; Olortegui, M.P.; Samie, A.; et al. Pathogen-specific burdens of community diarrhoea in developing countries: A multisite birth cohort study (MAL-ED). *Lancet Glob. Health* **2015**, *3*, e564–e575. [CrossRef]
2. Rogawski, E.T.; Liu, J.; Platts-Mills, J.A.; Kabir, F.; Lertsethtakarn, P.; Siguas, M.; Khan, S.S.; Praharaj, I.; Murei, A.; Nshama, R.; et al. Use of quantitative molecular diagnostic methods to investigate the effect of enteropathogen infections on linear growth in children in low-resource settings: Longitudinal analysis of results from the MAL-ED cohort study. *Lancet Glob. Health* **2018**, *6*, e1319–e1328. [CrossRef]
3. Coelho, C.H.; Durigan, M.; Leal, D.A.G.; Schneider, A.B.; Franco, R.M.B.; Singer, S.M. Giardiasis as a neglected disease in Brazil: Systematic review of 20 years of publications. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2017**, *11*, e0006005. [CrossRef] [PubMed]
4. Fantinatti, M.; Bello, A.R.; Fernandes, O.; Da-Cruz, A.M. Identification of *Giardia lamblia* Assemblage E in humans points to a new anthrozooonotic cycle. *J. Infect. Dis.* **2016**, *214*, 1256–1259. [CrossRef] [PubMed]
5. Fink, M.Y.; Singer, S.M. The intersection of immune responses, microbiota, and pathogenesis in giardiasis. *Trends Parasitol.* **2017**, *33*, 901–913. [CrossRef] [PubMed]
6. Singer, S.M. Control of Giardiasis by Interleukin-17 in humans and mice—are the questions all answered? *Clin. Vaccine Immunol.* **2016**, *23*, 2–5. [CrossRef] [PubMed]
7. Saghaug, C.S.; Sornes, S.; Peirasmaki, D.; Svard, S.; Langeland, N.; Hanevik, K. Human memory CD4+ T cell immune responses against *Giardia lamblia*. *Clin. Vaccine Immunol.* **2016**, *23*, 11–18. [CrossRef] [PubMed]
8. Pacheco, F.T.F.; Carvalho, S.S.; Cardoso, L.S.; Andrade, L.S.; das Chagas, G.M.T.; Gomes, D.C.; Mercês, C.F.; Rocha, F.C.; Silva, L.K.; Soares, N.M.; et al. Immune response markers in sera of children infected with *Giardia duodenalis* AI and AII subassemblages. *Immunobiology* **2019**, *224*, 595–603. [CrossRef] [PubMed]

9. Babaei, Z.; Malihi, N.; Zia-Ali, N.; Sharifi, I.; Mohammadi, M.A.; Kagnoff, M.F.; Eckmann, L.; Singer, S.M.; Solaymani-Mohammadi, S. Adaptive immune response in symptomatic and asymptomatic enteric protozoal infection: Evidence for a determining role of parasite genetic heterogeneity in host immunity to human giardiasis. *Microbes Infect.* **2016**, *18*, 687–695. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
10. Liu, J.; Ma'ayeh, S.; Peirasmaki, D.; Lundstrom-Stadelmann, B.; Hellman, L.; Svard, S.G. Secreted *Giardia intestinalis* cysteine proteases disrupt intestinal epithelial cell junctional complexes and degrade chemokines. *Virulence* **2018**, *9*, 879–894. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
11. Chin, A.C.; Teoh, D.A.; Scott, K.G.; Meddings, J.B.; Macnaughton, W.K.; Buret, A.G. Strain-dependent induction of enterocyte apoptosis by *Giardia lamblia* disrupts epithelial barrier function in a caspase-3-dependent manner. *Infect. Immun.* **2002**, *70*, 3673–3680. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Peo'ch, K.; Nuzzo, A.; Guedj, K.; Paugam, C.; Corcos, O. Diagnosis biomarkers in acute intestinal ischemic injury: So close, yet so far. *Clin. Chem. Lab. Med.* **2018**, *56*, 373–385. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Brenchley, J.M.; Price, D.A.; Schacker, T.W.; Asher, T.E.; Silvestri, G.; Rao, S.; Kazzaz, Z.; Bornstein, E.; Lambotte, O.; Altmann, D.; et al. Microbial translocation is a cause of systemic immune activation in chronic HIV infection. *Nat. Med.* **2006**, *12*, 1365–1371. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Cotton, J.A.; Bhargava, A.; Ferraz, J.G.; Yates, R.M.; Beck, P.L.; Buret, A.G. *Giardia duodenalis* cathepsin B proteases degrade intestinal epithelial interleukin-8 and attenuate interleukin-8-induced neutrophil chemotaxis. *Infect. Immun.* **2014**, *82*, 2772–2787. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Cotton, J.A.; Motta, J.P.; Schenck, L.P.; Hirota, S.A.; Beck, P.L.; Buret, A.G. *Giardia duodenalis* infection reduces granulocyte infiltration in an in vivo model of bacterial toxin-induced colitis and attenuates inflammation in human intestinal tissue. *PLoS ONE* **2014**, *9*, e109087. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Breen, E.J.; Polaskova, V.; Khan, A. Bead-based multiplex immuno-assays for cytokines, chemokines, growth factors and other analytes: Median fluorescence intensities versus their derived absolute concentration values for statistical analysis. *Cytokine* **2015**, *71*, 188–198. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]



Apêndice 4. Artigo 3 "Parasitoses intestinais e saneamento básico no Brasil: estudo de revisão integrativa"

Brazilian Journal of Development

22867

Parasitoses intestinais e saneamento básico no Brasil: estudo de revisão integrativa

Intestinal parasites and basic sanitation in Brazil: an integrative review study

DOI: 10.34117/bjdv6n5-006

Recebimento dos originais: 04/04/2020
Aceitação para publicação: 01/05/2020

Phelipe Austriaco Teixeira

Doutorando em Medicina Tropical

Laboratório Interdisciplinar de Pesquisas Médicas, Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Av. Brasil 4365, Manguinhos, Rio de Janeiro-RJ, Brazil. CEP 21040-360
E-mail: ph-austriaco@hotmail.com

Maria Fantinatti

Doutora em Ciências

Laboratório Interdisciplinar de Pesquisas Médicas, Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Av. Brasil 4365, Manguinhos, Rio de Janeiro-RJ, Brazil. CEP 21040-360
E-mail: maria.fantinatti@gmail.com

Monique Pinto Gonçalves

Graudanda em Biomedicina

Laboratório Interdisciplinar de Pesquisas Médicas, Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Av. Brasil 4365, Manguinhos, Rio de Janeiro-RJ, Brazil. CEP 21040-360
E-mail: monique3009@hotmail.com

Joziane Santos da Silva

Mestranda pelo Mestrado Profissional Enfermagem Assistencial – Escola de Enfermagem Aurora de Afonso Costa (MPEA/EEAAC)
Instituição: Universidade Federal Fluminense
Endereço: Rua Dr. Celestino, 74, 6º andar. Centro. Niterói - RJ. 24020-091.
E-mail: jozysilva78@gmail.com

RESUMO

O desenvolvimento tecnológico e a urbanização desordenada não perdoaram o homem das doenças associadas à pobreza e à falta de saneamento básico, principalmente nos países em desenvolvimento, como o Brasil. O objetivo desse trabalho foi identificar a literatura produzida sobre o saneamento básico e parasitoses intestinais no Brasil, no período entre 2007 e 2018. Metodologia: revisão integrativa da literatura, utilizando os descritores *Parasitologia e Saneamento Básico*, na Biblioteca Virtual em Saúde e *Intestinal Parasitosis, Sanitation e Brazil* na Literatura Internacional em Ciências da Saúde. Foram levantados 29 estudos, dos quais 44,8% (13/29) foram realizados na região sudeste. Os principais achados foram: as parasitoses intestinais são referidas como importante problema de saúde pública associadas à precariedade no saneamento; *Ascaris lumbricoides* foi o helminto mais prevalente nos estudos com amostras humanas; a educação em saúde foi relatada como elemento indissociável ao saneamento na redução da prevalência de enteroparasitoses. As parasitoses intestinais ainda permanecem como problema de saúde pública no

Brasil, o que salienta a necessidade de melhorias no saneamento, principalmente nas áreas com maior vulnerabilidade social e sanitária.

Palavras-chave: Direito à Saúde, Saneamento Básico, Parasitologia, Saúde Pública.

ABSTRACT

Technological development and disorderly urbanization have not forgiven man for diseases associated with poverty and poor sanitation, especially in developing countries such as Brazil. The objective of this study was to identify the literature produced on basic sanitation and intestinal parasites in Brazil, between 2007 and 2018. Methodology: integrative literature review, using the descriptors Parasitology and Basic Sanitation, in the Virtual Health and Intestinal Parasitosis Library, Sanitation and Brazil in the International Literature on Health Sciences. 29 studies were surveyed, of which 44.8% (13/29) were conducted in the Southeast. The main findings were: intestinal parasitoses are referred to as an important public health problem associated with poor sanitation; *Ascaris lumbricoides* was the most prevalent helminth in studies with human samples; Health education was reported as an inseparable element of sanitation in reducing the prevalence of enteroparasitic diseases. Intestinal parasitoses still remain a public health problem in Brazil, which highlights the need for improvements in sanitation, especially in areas with greater social and health vulnerability.

Keywords: Right to Health, Basic Sanitation, Parasitology, Public Health.

1. INTRODUÇÃO

O crescente desenvolvimento tecnológico inequitativo e a intensa urbanização desordenada não perdoaram o homem das doenças associadas à pobreza e a falta de saneamento básico, principalmente nos países em via de desenvolvimento, como o Brasil (BUSS, 2007; BRASIL, 2015). Essa estreita relação entre “doença e falta de saneamento” aflige o direito constitucional do brasileiro em duas esferas primordiais: o direito à saúde e o direito ao saneamento.

O direito à saúde está consubstanciado no artigo 196 da Constituição Federal do Brasil de 1988 e define que “a saúde é um direito de todos e dever do Estado, garantido mediante políticas sociais e econômicas que visem a redução do risco de doença e de outros agravos (...) às ações e serviços para sua promoção, proteção e recuperação.”

Nesse sentido, a saúde ultrapassa a mera ausência de doença e perpassa o completo bem-estar físico e psicossocial do indivíduo, vislumbrando os aspectos culturais e sociais por ele compreendido, estando no cerne do sistema de saúde brasileiro as ações de promoção e prevenção para efetivação desse direito (BRASIL, 1988).

Por sua vez, o saneamento básico e a política federal de saneamento básico possuem suas diretrizes estabelecidas na Lei do Saneamento (Lei N° 11.445/2007), sendo o saneamento compreendido em sua visão ampla por: serviços de abastecimento de água, esgotamento sanitário e tratamento dos efluentes, coleta e destinação final dos resíduos sólidos, drenagem urbana e controle de vetores, associados aos aspectos de saúde e do meio ambiente natural e construído.

A falta de saneamento é um problema comumente referido no Brasil e contribui para o surgimento de morbidades e até fatalidades em nosso país, especialmente das doenças associadas à pobreza como as parasitoses intestinais (PAIVA e SOUZA, 2018).

A Organização Mundial da Saúde recomenda que as ações de enfrentamento desse problema de saúde pública estejam alinhadas à melhoria das condições ambientais (WHO, 2012). Entretanto, no Brasil, a distribuição adequada do saneamento perpassa entraves políticos e governamentais a fim de atender toda a população (BRITTO e REZENDE, 2017).

No Brasil, a prevalência geral das enteroparasitoses é desconhecida, uma vez que essas doenças no país não são de notificação compulsória. O que se estima de prevalência decorre de estudos pontuais e de geo-helmintos associados aos estudos da esquistossomíase. Estima-se então uma prevalência de 2 a 36% e que pode chegar a 70% nos indivíduos em idade escolar, o que revela um importante cenário de preocupação na saúde pública nacional (BRASIL, 2017; SILVA et al. 2011; AGUIAR-SANTOS et al. 2013).

Paiva e Souza (2018) ao avaliarem a associação entre condições de saneamento e internações por doenças de veiculação hídrica no Brasil mostraram uma relação significativa entre a cobertura por coleta de esgoto e o número de internações. O Instituto de Geografia e Estatística corrobora o resultado dos autores ao mencionar que os óbitos por diarreia na infância estão relacionados com a precariedade do serviço de esgotamento sanitário (BRASIL, 2010).

Por meio do Plano Nacional de Vigilância e Controle das Enteroparasitoses, o Brasil traçou em seus objetivos a identificação dos principais fatores de risco associados às parasitoses intestinais, assim como o conhecimento sobre o comportamento epidemiológico das doenças quanto ao agente etiológico, pessoa, tempo e lugar, hospedeiro e meio ambiente (BRASIL, 2005). Aliado ao plano, no ano de 2011, o Ministério da Saúde definiu um conjunto de doenças para ações estratégicas de enfrentamento e controle com a criação do Plano Integrado de Ações Estratégicas (BRASIL, 2012).

Entretanto, as ações elencadas nos respectivos projetos privilegiam o tratamento populacional em massa e não estão interligadas às melhorias das condições de saneamento, mostrando fragilidade nas estratégias de controle e um abismo para eliminação desse problema de saúde pública no cenário brasileiro.

Para compreender a importância do estudo do binômio “Enteroparasitoses/Saneamento” e dos fatores associados a esse problema de saúde pública, além da identificação de pontos de estratégias de enfrentamento e controle, **objetivo geral** desta revisão foi:

- buscar a literatura produzida sobre o saneamento básico e parasitoses intestinais no Brasil, no período compreendido entre 2007 e 2018.

Como **objetivos específicos** buscaram-se:

- identificar as parasitoses intestinais mais frequentes relatadas nos estudos;
- discutir as estratégias de enfrentamento às parasitoses intestinais, correlacionadas ao saneamento.

2.METODOLOGIA

Trata-se de um estudo exploratório e descritivo de revisão integrativa da literatura. Esse tipo de estudo objetiva tornar um problema mais explícito e a construir hipóteses a seu respeito, assim como, descrever as características e identificar relações entre variáveis (GIL, 2010).

A revisão integrativa da literatura proporciona a reunião de achados a partir de diferentes métodos de pesquisa, permitindo a síntese dos resultados sem ferir os dados originais. Portanto, necessita ser realizada de maneira sistemática e rigorosa (SOARES et al. 2014).

Seguindo as diretrizes propostas por Whitemore e Knafl (2005), a realização desta revisão se deu através das seguintes etapas: 1) identificação do tema e estabelecimento do problema de pesquisa; 2) busca na literatura; 3) avaliação dos dados; 4) análise dos dados (síntese dos dados, exibição dos dados, comparação dos dados, conclusão) e 5) apresentação dos resultados da pesquisa.

A identificação do problema de pesquisa é o ponto de partida de qualquer método de investigação, e deve ser claro e abordar o propósito do estudo. Entendendo como estreita a relação entre saneamento básico e parasitoses intestinais, se estabeleceu como questão da pesquisa: Qual a produção científica sobre Saneamento e Parasitoses Intestinais no Brasil?

A busca da literatura foi realizada nos bancos de dados informatizados da Biblioteca Virtual em Saúde-BVS (<http://bvsm.s.saude.gov.br/>) e na Literatura Internacional em Ciências da Saúde-MEDLINE (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>). Na BVS, a busca das obras indexadas foi realizada por meio dos descritores associados “**Saneamento Básico**” e “**Parasitologia**”, consultados no banco de Descritores em Ciências da Saúde (<http://decs.bvs.br/>). Na MEDLINE, a busca foi realizada por meio dos termos associados “**Intestinal Parasitosis**” e “**Sanitation**” e “**Brazil**”, consultados no Medical Subject Headings (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh>).

Foi escolhido como recorte temporal o período de 2007 a 2018. A escolha do ano de 2007 se deve ao marco regulatório do saneamento básico no Brasil. Além disso, foram selecionados apenas artigos nos idiomas inglês, espanhol ou português. A Figura 1 mostra o fluxograma para seleção dos estudos incluídos nessa revisão.

Para avaliação e análise de dados foram observados os métodos utilizados nos estudos, assim como os conteúdos categorizados em: 1) enteroparasitoses mais frequentes em cada estudo e 2) considerações de cada estudo sobre a relação entre parasitoses intestinais e o saneamento.

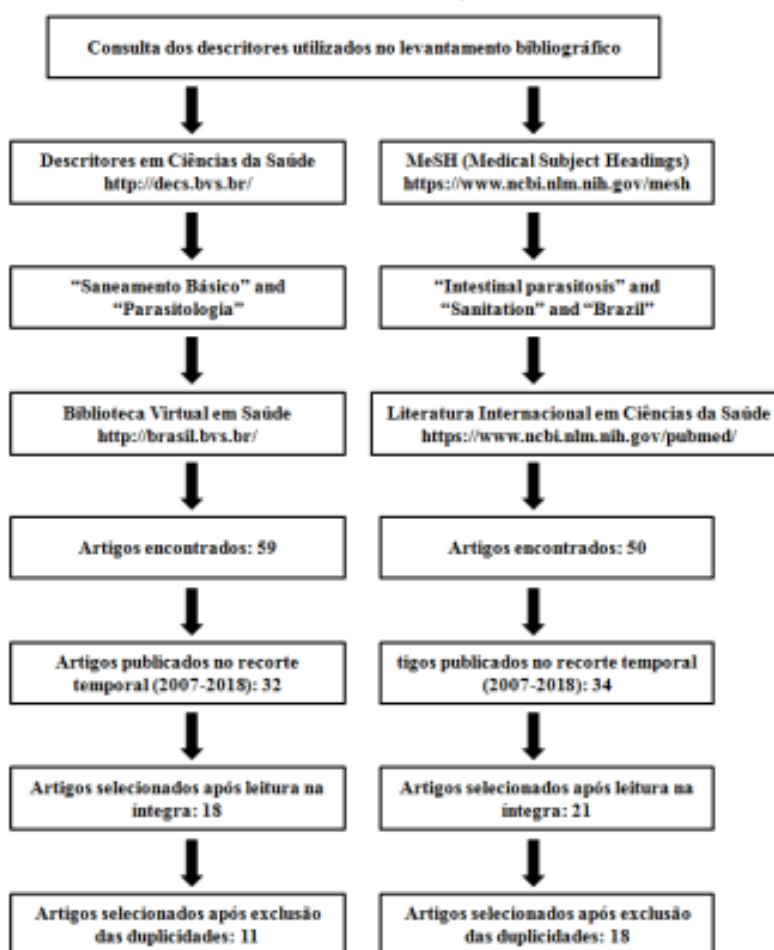


Figura 1 - Fluxograma do processo de seleção dos artigos pesquisados na Biblioteca Virtual em Saúde (BVS) e na Literatura Internacional em Ciências da Saúde (MEDLINE) para a realização de revisão integrativa, de acordo com os passos propostos por Whitemore e Knafl (2005).

Fonte: Elaboração do autor

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram encontrados 32 artigos na BVS e 34 na MEDLINE dentro do recorte temporal (2007-2018). Após a leitura na íntegra, 18 foram selecionados a partir da busca na BVS e 21 na MEDLINE, pois tratavam do tema saneamento e parasitoses intestinais. Entretanto, 10 estavam duplicados, sendo selecionados 11 artigos científicos via BVS e 18 por meio da MEDLINE. Dessa

forma, foram encontrados 29 trabalhos que constituíram a base para discussão, conforme o **Quadro 1**.

Os estudos selecionados foram realizados em sua maioria na região sudeste (13/29, 44,8%), conforme Figura 2. Esse fato pode estar relacionado aos grupos de pesquisa que trabalham com enteroparasitos nessa região do Brasil. Coelho et al. (2017) encontraram escassez de estudos sobre giardíase em amostras de água nas regiões norte, nordeste e centro-oeste do Brasil. Os autores correlacionam a baixa produção científica nas respectivas regiões como reflexo das disparidades sociais existentes no país.

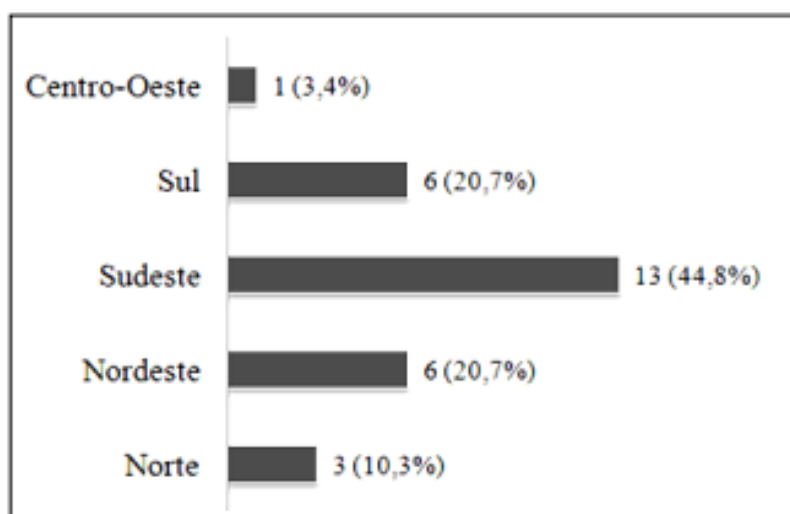


Figura 2– Distribuição do número de artigos selecionados na revisão, por região brasileira, de acordo com o local de realização da pesquisa

Fonte. Elaboração do autor

O helminto mais prevalente na população humana foi *Ascaris lumbricoides*, relatado em 58,3% (14/24) dos estudos que analisaram amostras fecais humanas com técnica diagnóstica para detecção de helmintos. A prevalência desse geo-helminto variou de 5,0% a 70,0%. Essas frequências corroboram as estimativas nacionais encontradas anteriormente, que estimam prevalências que variam de 2% a 36%, podendo chegar a 70% em escolares. (BRASIL, 2017; MATA-SANTOS et al. 2013; ANDRADE et al. 2011; SILVA et al. 2011; VASCONCELOS et al. 2011).

Apesar de a região sudeste ter apresentado o maior número de publicações, apenas quatro estudos (30,8%, 4/13) apresentaram o helminto *A. lumbricoides* como o mais frequente na população humana, com uma prevalência que variou de 2,5% a 22,4%. Esse dado sugere que apesar

dos estudos sobre parasitoses intestinais serem mais frequentes na região sudeste, *A. lumbricoides* não aparenta ser um importante problema de saúde pública nessa região, sendo protagonistas os protozoários, como *G. intestinalis* (KORKES et al. 2009; FANTINATTI et al. 2016; IGNACIO et al. 2018).

Destaca-se que as parasitoses intestinais não são doenças de notificação compulsória, e os dados sobre a real frequência dessas infecções são desconhecidas. Os dados nacionais sobre helmintos estão relacionados ao controle da esquistossomíase ou estão restritos aos locais escolhidos como prioritários pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2018b).

Por sua vez, *Giardia intestinalis* foi o protozoário mais relatado infectando a população nos estudos que realizaram técnica de diagnóstico para o parasito (10/25, 40,0%), com uma prevalência que variou de 4,9% a 96,6%. Esse dado é corroborado pela literatura (IGNACIO et al. 2018; FANTINATTI et al. 2016). Entretanto, apesar de ser um problema comumente referenciado nos estudos brasileiros sobre enteroparasitoses, a giardíase permanece como uma doença negligenciada no país (COELHO et al. 2017; FANTINATTI, 2019; AUSTRÍACO-TEIXEIRA, OLIVEIRA e FANTINATTI, 2019).

Nesse sentido, expõem Coronato-Nunes et al. (2016) que a distribuição da giardíase pode estar atrelada às múltiplas fontes de infecção, que podem estar relacionadas à contaminação ambiental com fezes, possivelmente de origem humana e animal, destacando a necessidade de saneamento, acesso ao diagnóstico e adequado tratamento de infecções. (CORONATO-NUNES, 2016).

As principais discussões sobre a correlação entre saneamento e parasitoses intestinais abordadas nos estudos incluíram: vulnerabilidade de grupos minoritários, condições de moradia, falta de água e qualidade de água usada para beber, ausência de rede de esgoto, solos contaminados.

Santos et al. (2014) alertam para ocorrência precoce das parasitoses intestinais, em especial nos ambientes urbanos, salientando que as melhorias de qualidade de vida e saneamento básico são importantes fatores para evitar a contaminação ambiental.

A vulnerabilidade sanitária de grupos minoritários foi citada em estudos realizados em assentamentos, quilombos e áreas indígenas. (MORAES, 2007; TOLEDO et al. 2009; MOURA et al. 2010; ANDRADE et al. 2011; BRANDELLI et al. 2012; DAMAZIO et al. 2013; LIMA JUNIOR, KAISER e CATISTI, 2013; ASSIS et al. 2013; SIMÕES et al. 2015; SILVA et al. 2018). Damazio et al. (2013) apontam que a ausência de saneamento nas comunidades afrodescendentes, para os autores grupos minoritários às margens da sociedade, contribui para o aumento das infecções parasitárias nesse grupo e que as ações de controle para esse público devem perpassar

além das melhorias ambientais e políticas públicas para aumento da renda familiar, a escolaridade dos indivíduos e o acesso aos serviços de saúde.

Andrade et al. (2011) referiram em seu estudo, realizado em comunidade quilombola no estado de Minas Gerais, uma relação positiva entre a falta de tratamento na água utilizada para beber e o aumento da prevalência de enteroparasitoses e de indivíduos poliparasitados. Os autores observaram ainda uma associação da infecção por *A. lumbricoides* e a falta de água no domicílio.

No mesmo sentido, as áreas rurais também aparecem como menos providas pelos serviços de saneamento. Mati, Pinto e Melo (2011) mencionam que as diferenças entre as áreas urbanas e rurais refletem a disparidade socioeconômica, e piores condições de saneamento são observadas na área rural, favorecendo a infecção por enteroparasitos nesses locais.

Os assentamentos também aparecem como locais vulneráveis aos enteroparasitos devido às precárias condições de saneamento básico segundo os estudos encontrados (MORAES, 2007; LIMA JUNIOR, KAISER e CATISTI, 2013; SILVA et al. 2018). Silva et al. (2018) apontam que os assentamentos estão isolados, distantes dos centros urbanos e apresentam dificuldade de transporte para população, consequentemente dificultando o acesso aos serviços de saúde. Essa realidade torna-se mais preocupante porque esses locais são marcados pela precariedade sanitária, baixa condição socioeconômica e deficiência educacional, fatores somados que elevam o risco à aquisição das enteroparasitoses.

Quadro I-Artigos selecionados para revisão por meio de busca na Biblioteca Virtual em Saúde e na Literatura Internacional em Ciências da Saúde

Autores/Ano	Periódico	Título	Local de estudo	Helminto mais prevalente na população	Protozoário mais prevalente na população	Considerações sobre o saneamento
SEGUI et al. (2018)	Parasit Vectors	Prevalence of intestinal parasites, with emphasis on the molecular epidemiology of <i>Giardia duodenalis</i> and <i>Blasotrysis</i> sp., in the Paramagu Bay, Brazil: a community survey.	Paraná (Sul)	<i>Ascaris lumbricoides</i> (5,0%)	<i>Blasotrysis</i> sp. (28,2%)	Os dados do estudo indicam que as parasitoses intestinais ainda representam um problema de saúde pública no Paraná provavelmente devido a qualidade da água e baixas condições de saneamento e higiene.
SILVA et al. (2018)	J Parasitol Res	Enteroparasites in Riverside Settlements in the Pantanal Wetlands Ecosystem	Mato Grosso do Sul (Centro-Oeste)	<i>Ancilostomódeos</i> (17,2%)	<i>Entamoeba coli</i> (70,2%)	A alta frequência de enteroparasitas encontrada reflete a falta de saneamento e de hábitos inadequados de higiene pessoal e ambiental, indicando que políticas efetivas de saúde e intervenções educacionais são necessárias para reduzir as taxas de infecção.
CAPELLA et al. (2018)	Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science	Environmental contamination by parasitic forms in a socially vulnerable community in southern Rio Grande do Sul state: a serious public health problem	Rio Grande do Sul (Sul)	-	-	O estudo mostra alta taxa de contaminação ambiental por enteroparasitos. Os autores salientam que a identificação de diferentes parasitos com potencial zoonótico é preocupante, pois mostra o alto potencial antropozoonótico desses agentes infecciosos. Além disso, valorizam a educação em saúde como medida de controle na comunidade estudada.
CARDOSO et al. (2017)	Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo	Environmental aspects related to tuberculosis and intestinal parasites in a low-income community of the Brazilian Amazon	Para (Norte)	<i>Ascaris lumbricoides</i> (14%)	<i>Giardia intestinalis</i> (40%)	O estudo observou que a prevalência de enteroparasitos está associada à precariedade no saneamento, em especial ao uso de água não tratada. Os autores apontam que a melhoria das condições ambientais constitui ação mais sustentável diante do problema, quando comparadas a quimioterapia.
PONSECA BARBOSA e FERREIRA (2017)	Revista Brasileira de Enfermagem	High prevalence of enteroparasites in children from Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil	São Paulo (Sudeste)	<i>Ascaris lumbricoides</i> (17,8%)	<i>Giardia lamblia</i> (50,8%)	Os autores apontam que o local de estudo apresenta boas condições de saneamento ambiental e, portanto, as atividades de educação em saúde devem ser introduzidas para melhorar os hábitos de higiene da população.
SILVA et al. (2016)	Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology	Factors Associated with Gastrointestinal Parasitic Infections among Young Population in Northeast Brazil	Alagoas (Nordeste)	<i>Trichuris trichiura</i> (31,5%)	<i>Entamoeba coli</i> (31,4%)	Ações devem ser tomadas para melhorar as condições de saneamento, habitacionais e ambientais, a fim de eliminar os fatores de risco para infecções parasitárias e, assim, garantir uma melhor qualidade de vida para esta população.
CORONATO-NUNES et al. (2016)	PLoS One	Spatial and Molecular Epidemiology of <i>Giardia intestinalis</i> Deep in the Amazon, Brazil.	Amazonas (Norte)	-	<i>Giardia lamblia</i> (16,9%)	A distribuição da giardíase observada no estudo pode estar atrelada a múltiplas formas de infecção, que podem estar relacionadas a contaminação ambiental com fezes, possivelmente de origem humana e animal, destacando a necessidade de saneamento, acesso ao diagnóstico e adequado tratamento de infecções.

SIMÕES et al. (2015)	Revista Panamericana de Salud Pública	Environmental conditions and prevalence of parasitic infection in Xukuru-Kariri indigenous people, Caidas, Brazil	Minas Gerais (Sudeste)	-	<i>Entamoeba coli</i> (60,0%)	O estudo encontrou precárias condições de saneamento na aldeia. Os autores apontam que a interação entre consumo de água contaminada, disposição inadequada de lixo e dejetos humanos, falta de saneamento básico e enteroparasitoses pode causar danos ao meio ambiente e à saúde indígena. Assim, medidas governamentais de saneamento básico e educação em saúde devem ser implementadas para melhorar as condições ambientais e parasitológicas.
SANTOS et al. (2014)	BMC Public Health	Diarrhea incidence and intestinal infections among rotavirus vaccinated infants from a poor area in Brazil: a spatial analysis	Sergipe (Nordeste)	<i>Ascaris lumbricoides</i> (3,1%)	<i>E. spoox</i> (3,0%)	Os autores chamam atenção da ocorrência precoce parasitoses intestinais, mais frequentes nos ambientes urbanos, evidenciando contaminação ambiental que necessita ser enfrentada com as melhorias no saneamento e de qualidade de vida.
ASSIS et al. (2013)	Cad. Saúde Pública	Prevalence of intestinal parasites in the Marakali indigenous community in Minas Gerais, Brazil, 2009	Minas Gerais (Sudeste)	Ancilostomódeos (37,9%)	<i>Entamoeba histolytica</i> / <i>Entamoeba dispar</i> (48,9%)	Os resultados apontam para precárias condições de saneamento nas aldeias estudadas, que resultam em altas taxas de infecção por enteroparasitos e implicam na necessidade de medidas urgentes de saneamento básico, programas de educação em saúde e tratamento em massa periódico, e participação popular.
MATTA-SANTOS et al. (2013)	Revista do Instituto Adolfo Lutz	Prevalência de enteroparasitas em crianças atendidas em unidades básicas de saúde em uma cidade do sul do Brasil	Rio Grande do Sul (Sul)	<i>Ascaris lumbricoides</i> (11,1%)	<i>Giardia intestinalis</i> (4,5%)	Os resultados encontrados salientam a necessidade de melhorias no saneamento básico e programas de educação em saúde.
DAMAZIO et al. (2013)	Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo	Intestinal parasites in a quilombola community of the Northern State of Espírito Santo, Brazil	Espírito Santo (Sudeste)	Ancilostomódeos (14,8%)	<i>Entamoeba coli</i> (23,2%)	O estudo aponta para ausência de saneamento nas comunidades de afrodescendentes, grupos minoritários e às margens da sociedade. A redução do risco deve ser atribuída ao aumento da renda familiar, escolaridade materna, habitação, saneamento básico e acesso a serviços de saúde.
LIMA JUNIOR, KASER, e CATISTI (2013)	Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo	High occurrence of giardiasis in children living on a 'landless farm workers' settlement in Araras, São Paulo, Brazil	São Paulo (Sudeste)	Ancilostomódeos (6,8%)	<i>Giardia intestinalis</i> (96,6%)	O estudo aponta que a precariedade do saneamento aumenta o risco para aquisição de doenças, e que o mero tratamento medicamentoso sem mudança nas condições ambientais não passa de medida paliativa.
BRANDELLI et al. (2012)	Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo	Intestinal parasitism and socio-environmental factors among Mbya-Guarani Indians, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil	Rio Grande do Sul (Sul)	<i>Ascaris lumbricoides</i> (32,3%)	<i>Entamoeba coli</i> (58,1%)	Os autores apontam a melhoria do saneamento associado ao tratamento e realização de atividades de educação em saúde para redução das taxas de parasitoses intestinais.
LUDWIG et al. (2012)	Journal of the Health Sciences Institute	Ocorrência de enteroparasitoses na população de um bairro da cidade de Cândido Mota-SP	São Paulo (Sudeste)	<i>Enterobius vermicularis</i> (19,3%)	<i>Giardia intestinalis</i> (39%)	O estudo mostra uma alta prevalência de enteroparasitos e relaciona esse número às deficiências sanitárias e precariedade das condições de moradia.
VISSER et al. (2011)	Ciência & Saúde Coletiva	Study of the association between socio-environmental factors and the prevalence of intestinal parasitosis in the suburbs of the city of Manaus in	Amazonas (Norte)	<i>A. lumbricoides</i> (70,0%)	<i>Entamoeba coli</i> (42,2%)	No estudo foi demonstrado um maior risco para parasitoses intestinais quando associado à disposição do esgoto a céu aberto. Houve também evidência do risco elevado para protozoários intestinais quando o

		the state of Amazonas, Brazil				esgoto doméstico teve como destino final o despejo a céu aberto. Esses resultados apontam que a falta de saneamento constitui risco para parasitoses intestinais.
ANDRADE et al. (2011)	Epidemiologia e serviços de saúde	Prevalência de parasitos intestinais em comunidade quilombola no município de Bias Fortes, estado de Minas Gerais, Brasil, 2008	Minas Gerais (Sudeste)	<i>Ascaris lumbricoides</i> (22,4%)	<i>Giardia intestinalis</i> (10,6%)	O estudo aponta que há relação entre a falta de saneamento e o risco para infecção por parasitos intestinais. Além disso, mostra a associação entre a falta de água com as taxas elevadas de <i>A. lumbricoides</i> .
MATI, PINTO e MELO (2011)	Revista de Patologia Tropical	Levantamento de parasitos intestinais nas áreas urbana e rural de Itambe do Mato Dentro, Minas Gerais, Brasil	Minas Gerais (Sudeste)	Ancilostomídeos (4,3%)	<i>Entamoeba histolytica</i> / <i>E. dispar</i> (18,0%)	O estudo aponta que as áreas rurais apresentam mais deficiências no saneamento quando comparadas às áreas urbanas, mostrando que essa condição favorece a infecção por enteroparasitos.
SILVA et al. (2011)	Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical	Parasitismo por <i>Ascaris lumbricoides</i> e seus aspectos epidemiológicos em crianças do Estado do Maranhão	Maranhão (Nordeste)	<i>Ascaris lumbricoides</i> (53,6%)	-	O estudo mostra uma alta prevalência de parasitos intestinais e relaciona esse alto índice à falta de saneamento básico no local de estudo, salientando que as crianças utilizam medicação antiparasitária sem realizar exames parasitológicos.
VASCONCELOS et al. (2011)	Acta Scientiarum. Health Sciences	Prevalência de parasitos intestinais entre crianças de 4-12 anos no Crato, estado do Ceará: um problema recorrente de saúde pública	Ceará (Nordeste)	<i>Ascaris lumbricoides</i> (21,9%)	<i>Entamoeba</i> sp. (303%)	Os autores relacionam os fatores socioambientais com a frequência de enteroparasitos nas crianças, salientando que não bastam condições mínimas de saneamento sem políticas de planejamento urbano.
MOURA et al. (2010)	Revista Panamericana de Salud Pública	Enteroparasite contamination in peridomestic soils of two indigenous territories, State of Paraná, southern Brazil	Paraná (Sul)	-	-	A alta taxa de contaminação do solo sugere a necessidade do saneamento básico na área de estudo, em especial de esgotamento sanitário, pois os indivíduos e seus animais defecam no chão e permitem que seus animais domésticos façam o mesmo, gerando risco de disseminação e reinfecções para enteroparasitoses.
BARRETO et al. (2010)	Environ Health Perspect.	Impact of a citywide sanitation program in Northeast Brazil on intestinal parasite infection in young children	Bahia (Nordeste)	<i>Ascaris lumbricoides</i> (12,0%)	<i>Giardia intestinalis</i> (5,3%)	O estudo mostra o impacto positivo da implementação de um programa de saneamento, em uma grande população, sobre as taxas de infecção por enteroparasitos.
MORAES NETO et al. (2010)	Parasitol Res.	Prevalence of intestinal parasites versus knowledge, attitudes, and practices of inhabitants of low-income communities of Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro State, Brazil	Rio de Janeiro (Sudeste)	<i>Ascaris lumbricoides</i> (13,0%)	<i>Giardia intestinalis</i> (24,4%)	O estudo salienta o destaque das medidas profiláticas no combate às enteroparasitoses: educação em saúde e melhorias socioeconômicas e sanitárias por parte das autoridades governamentais e da população.
TOLEDO et al. (2009)	Rev Saude Publica	Evaluation of enteroparasite control activities in a Kaingang community of Southern Brazil	Paraná (Sul)	<i>Ascaris lumbricoides</i> (34,1%)	<i>Entamoeba coli</i> (65,8%)	Os autores salientam a importância de combinar o tratamento antiparasitário com melhorias de saneamento.
FREI JUNCANSEN e RIBEIRO-PAES (2009)	Cadernos de Saude Publica	Epidemiological survey of intestinal parasite infections: analytical bias due to prophylactic treatment	São Paulo (Sudeste)	<i>Enterobius vermicularis</i> (24,3%)	<i>Giardia intestinalis</i> (42,6%)	Os autores apontam que uma possível "quimioprofilaxia" pode mascarar as condições de saneamento e educação deficientes, assim haveria baixa prevalência de enteroparasitoses devido a reiterados tratamentos, e não pela implementação de saneamento básico e educação em saúde.

KORKES et al. (2009)	Journal of Tropical Pediatrics	Relationship between intestinal parasitic infection in children and soil contamination in an urban slum.	São Paulo (Sudeste)	<i>Ascaris lumbricoides</i> (2,5%)	<i>Endolimax nana</i> (20,5%)	Os autores encontraram uma baixa prevalência de helmintos quando comparada a estudos anteriores, entretanto salientam que a infecção por protozoários ainda é frequente. Há recomendações para alcançar os segmentos mais desfavorecidos das populações e melhorar o acesso à água potável, saneamento e educação em saúde, a fim de reduzir as frequências de enteroparasitos.
MINE e ROSA (2008)	Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical	Frequency of Blastocystis hominis and other intestinal parasites in stool samples examined at the Parasitology Laboratory of the School of Pharmaceutical Sciences at the São Paulo State University, Araraquara	São Paulo (Sudeste)	<i>Strongyloides stercoralis</i> (6,7%)	<i>Entamoeba coli</i> (14,3%)	O estudo aponta uma alta prevalência de enteroparasitos e que esta se mantém constante nos últimos 30 anos. Há um reflexo a ser feito, pois no local onde a maioria das amostras foram coletadas, possui 100% de cobertura de tratamento de esgoto. Logo, os autores salientam a necessidade de educação em saúde.
MORAES (2007)	Caç, Saude Publica	Household solid waste bagging and collection and their health implications for children living in outlying urban settlements in Salvador, Bahia State, Brazil	Bahia (Nordeste)	-	-	O estudo mostra uma associação estatisticamente significativa entre o tipo de acondicionamento domiciliar dos resíduos sólidos, bem como entre a coleta de resíduos sólidos domiciliares no ambiente de domínio público e a prevalência geo-helmintos em crianças entre cinco e 14 anos de idade. Esses dados remontam a necessidade da universalização do serviço de coleta regular de resíduos sólidos domiciliares e práticas educativas para mudança no comportamento frente ao manejo e acondicionamento domiciliar dos resíduos sólidos.
DANTAS, MAMEDE-NASCIMENTO e SANTOS (2007)	Revista de Patologia Tropical	Encontro de ovos e larvas de helmintos no solo de praças públicas na zona sul da cidade do Rio de Janeiro	Rio de Janeiro (Sudeste)	-	-	O estudo aponta alta taxa de contaminação ambiental por parasitos intestinais em praças públicas de uma área com boas condições de saneamento no Rio de Janeiro, salientando a importância das ações de controle.

Fonte: Elaboração do autor

Moraes (2007) mostrou uma associação estatística entre o tipo de acondicionamento domiciliar de resíduos sólidos, bem como a coleta de resíduos sólidos domiciliares e a prevalência de geo-helmintos em crianças de cinco a 14 anos de idade em um assentamento urbano da Bahia, região nordeste. Os autores remontam a falta de universalização do serviço de coleta regular de resíduos sólidos domiciliares e anecessidade de educação em saúde para melhor manejo domiciliar desses resíduos.

As áreas indígenas também foram mencionadas como local de risco à aquisição das enteroparasitoses devido a precariedade sanitária (TOLEDO et al. 2009; MOURA et al. 2010; BRANDELLI et al. 2012; ASSIS et al. 2013; SIMÕES et al. 2015). O estudo realizado por Simões et al. (2015) revelou precárias condições de saneamento em uma aldeia localizada em Minas Gerais, região sudeste do Brasil. Os autores mencionam que a relação entre o consumo de água contaminada, disposição inadequada de lixo e fezes humanas, falta de saneamento básico e parasitoses intestinais podem causar danos à saúde indígena e ao meio ambiente. Dessa forma, ações estratégicas governamentais de saneamento e educação em saúde necessitam ser implementadas a fim de melhorar as condições ambientais e parasitológicas.

No mesmo sentido, Assis et al. (2013) também relatam alta frequência de parasitoses intestinais correlacionada às precárias condições de saneamento em aldeias de Minas Gerais. Os autores recomendam medidas urgentes de saneamento básico, atividades de educação em saúde, participação popular e tratamento em massa periódico. Brandelli et al. (2012), que realizaram estudo em aldeia Guarani, no Rio Grande do Sul, também recomendam o saneamento associado a realização de educação em saúde e tratamento para redução da frequência de parasitoses intestinais.

O tratamento em massa, interligado ao tratamento de água e melhorias sanitárias residenciais reduziram a prevalência de parasitoses intestinais em comunidade indígena no Paraná. Após implementação das medidas, houve redução da frequência de *Ascaris lumbricoides* de 63,2% em 2004 para 34,1% em 2006 (TOLEDO et al. 2009).

A realidade na deficiência sanitária de minorias brasileiras pode ser fruto de entraves políticos e má administração de recursos financeiros, pois os investimentos estão associados a parcerias governamentais e busca pelo poder. Nessa ótica, o cidadão brasileiro alocado em grupos desfavorecidos acaba por viver em condições precárias de vida, onde não existe serviço público para tratamento de água e condições adequadas de higiene (ANDRADE et al. 2011).

Moraes-Neto et al. (2010) chamam atenção para negligência flagrante no Brasil da esfera pública de saúde, principalmente em relação à população mais pobre, onde é alta a transmissão de parasitoses intestinais. Os autores afirmam que há incongruências no Plano Nacional e Controle de

Enteroparasitoses, no âmbito do Ministério da Saúde, onde os índices nacionais e regionais permanecem baseados em estimativas.

A falta de saneamento constitui alto risco para aquisição de parasitoses intestinais (VISSER et al. 2011), sendo precoce a ocorrência dessas infecções e frequente nos ambientes urbanos, o que salienta a necessidade de melhorias no saneamento e de qualidade de vida para redução da contaminação ambiental (SANTOS et al. 2014).

Barreto et al. (2010) mostram o impacto positivo da implementação de um programa de saneamento, em uma grande população da Bahia, sobre a frequência da infecção por parasitos intestinais. Houve uma redução de 24,4% para 12,0% na frequência da infecção por *Ascaris lumbricoides* e de 14,1% para 5,3% da frequência de *Giardia intestinalis*. Os autores sinalizam que o controle das enteroparasitoses deve partir de investimentos em esgotamento sanitário aliado às ações de promoção da saúde.

Estando evidenciada a relação direta entre a frequência de enteroparasitoses nos indivíduos e fatores socioeconômicos, Vasconcelos et al. (2011) mencionam que apenas condições mínimas de saneamento não são suficientes para o controle das enteroparasitoses, devendo esse setor público estar alinhado às políticas públicas de planejamento urbano.

Os hábitos de higiene pessoal e ambiental inadequados, e a falta de saneamento também foram correlacionadas à alta prevalência de enteroparasitoses no estudo de Silva et al. (2018). Esse achado reafirma a necessidade de políticas efetivas de saúde para redução das taxas de parasitismo.

A associação das parasitoses intestinais à pobreza generalizada mostra-se um problema social relevante. Os acessos aos serviços de saneamento e saúde necessitam estar no centro das discussões de políticas públicas efetivas, e de maneira a atender as pessoas que vivem em condições insalubres, a fim de garantir melhor qualidade de vida para essa população (SILVA et al. 2016).

A qualidade da água e baixas condições de saneamento e higiene foram relatadas no estudo de Seguí et al. (2018). Entretanto, os autores salientam que a prevalência das enteroparasitoses no local de estudo tem diminuído com o passar dos anos devido às melhorias nas fontes de água potável e instalações de saneamento, e às campanhas de tratamento em massa conduzidas no estado do Paraná nos últimos anos.

Corroboram nesse sentido Lima Junior, Kaiser e Catisti (2013) ao afirmarem que as precárias condições de vida contribuem para uma alta suscetibilidade a doenças parasitárias. Entretanto, os autores sugerem que o tratamento dos indivíduos infectados, sem identificar e eliminar as fontes de infecção é simplesmente uma medida paliativa.

O problema supracitado é agravado quando esse tratamento, que em tese deveria ser seletivo, é realizado de maneira cega para um problema que não é transparente aos órgãos públicos.

Silva et al. (2011) relatam que 84,6% das 220 crianças que participaram do seu estudo utilizavam medicação antiparasitária indicada por farmacêuticos ou balconistas, sem realizar exame. Essa realidade pode ser facilitada pela dificuldade do acesso aos serviços de saúde pela população, assim como a banalização do problema das parasitoses intestinais no Brasil, tanto pela população como por gestores da saúde e serviços assistenciais.

Corroborando o entendimento supracitado Cardoso et al. (2017) relatando que a população tende a concentrar o controle das enteroparasitoses na quimioterapia. Entretanto, os autores mencionam que o olhar sobre a melhoria das condições ambientais deve ser prioritário no contexto das ações sustentáveis.

No mesmo sentido, Toledo et al. (2009), apesar de recomendarem o tratamento anual dos grupos com maior risco para aquisição das parasitoses intestinais, afirmam a necessidade de alinhar a quimioterapia parasitária com o saneamento e a educação em saúde a fim de evitar episódios de reinfecção.

Segundo Frei, Juncasen e Ribeiro-Paes (2009) uma possível "quimioprofilaxia" pode mascarar as condições de saneamento deficientes, assim haveria baixa frequência de parasitos intestinais devido a reiterados tratamentos, e não pela implementação de saneamento e promoção da saúde.

Vale destacar que os estudos mencionam o saneamento básico para controle das parasitoses intestinais, não de maneira isolada, mas interligado às atividades de educação em saúde (CAPELLA et al. 2018; MATA-SANTOS et al. 2013; MINÉ e ROSA, 2008; MORAES-NETO et al. 2010; CARDOSO et al. 2017; FONSECA, BARBOSA e FERREIRA, 2017; SILVA et al. 2018).

A educação em saúde pode ser uma medida eficaz no controle das enteroparasitoses em localidades onde há boas condições de saneamento ambiental, pois permitem a melhoria dos hábitos de higiene da população, como a higiene das mãos e dos alimentos consumidos sem cozimento (FONSECA, BARBOSA e FERREIRA, 2017).

As atividades educativas podem funcionar como importantes ferramentas no controle das enteroparasitoses, em especial no compartilhar de saberes sobre as formas de prevenção e transmissão. Entretanto, essas atividades necessitam estar alinhadas às características culturais de cada grupo, como faixa etária, nível de escolaridade e adequadas à realidade local. Deve-se respeitar o conhecimento já adquirido, sendo importante o início dessas atividades desde a pré-escola, pois a população com maior risco de aquisição dessas infecções é o público infantil (AUSTRÍACO-TEIXEIRA, 2016).

Além dos estudos envolvendo amostras humanas, foram incluídos três (10,3%, 3/29) estudos que analisaram amostras de solo. Os resultados apontam elevada taxa de contaminação nos pontos

analisados e chamam atenção para o risco de transmissão antropozoonótica, disseminação e reinfecções para parasitoses intestinais. A contaminação desses ambientes pode influenciar a transmissão de enteroparasitos mesmo em regiões com bom padrão de saneamento, o que demanda novos olhares no controle deste problema de saúde pública. (SOUZA, MAMEDE-NASCIMENTO e SANTOS, 2007; MOURA et al. 2010; CAPELLA et al. 2018;).

Os resultados dessa revisão apontam que as parasitoses intestinais ainda persistem como importante problema de saúde pública no Brasil e que os esforços para o seu controle e eliminação ainda são insuficientes, demandando melhores ações e estratégias multi e transdisciplinares, intersetoriais e com participação social. A efetivação do direito ao saneamento, nesse contexto, é via primordial para redução das taxas de infecções e efetivação do direito à saúde, em especial nas áreas mais pobres e com dificuldades de acesso aos serviços de saúde.

4 CONCLUSÕES

Os estudos encontrados mostram que as parasitoses intestinais são referidas como importante problema de saúde pública associadas à precariedade no saneamento. *Ascaris lumbricoides* e *Giardia intestinalis* aparecem como os enteroparasitos, helmintos e protozoários, respectivamente, mais frequentes.

Assim, as estratégias de enfrentamento relatadas estão relacionadas à equidade para com as minorias, à melhoria no abastecimento e tratamento da água utilizada para consumo, ao melhoramento das condições de moradia, à formulação de políticas públicas para aumento de renda e acesso aos serviços de saúde e ao manejo de solos contaminados. Frisa-se que a educação em saúde foi referida como elemento indissociável ao saneamento na redução da prevalência de enteroparasitoses, pois é a base para o compartilhar de saberes para promoção da saúde e prevenção das infecções parasitárias.

REFERÊNCIAS

AGUIAR-SANTOS, Ana M. et al. Avaliação epidemiológica de doenças negligenciadas em escolares: filariose linfática e parasitoses intestinais. **J. Pediatr. (Rio J.)**, Porto Alegre, v. 89, n. 3, p. 250-255, 2013.

ANDRADE, Elisabeth Campos de et al. Parasitoses Intestinais: uma revisão sobre seus aspectos sociais, epidemiológicos, clínicos e terapêuticos. **Rev APS**. v.13, n.2, p. 231-240, 2010.

Brazilian Journal of Development

ANDRADE, Elisabeth Campos de et al. Prevalência de parasitoses intestinais em comunidade quilombola no Município de Bias Fortes, Estado de Minas Gerais, Brasil, 2008. **Epidemiol. Serv. Saúde**, Brasília, v. 20, n. 3, p. 337-344, 2011.

ASSIS, Ana Marlúcia et al. Desigualdade, pobreza e condições de saúde e nutrição na infância no Nordeste brasileiro. **Cad. Saúde Pública**, v. 23, n. 10, p.2337-2350, 2007.

ASSIS, Eliseu Miranda de et al . Prevalência de parasitos intestinais na comunidade indígena Maxakali, Minas Gerais, Brasil, 2009. **Cad. Saúde Pública**, v. 29, n. 4, p. 681-690, 2013.

AUSTRÍACO-TEIXEIRA, Phelipe; OLIVEIRA, Luis Antonio; FANTINATTI, Maria. *Giardia duodenalis* Genotyping from Dogs and Cats in Brazil: A Reality Still Unknown. **Journal of Dairy and Veterinary Sciences**, 2019.

AUSTRÍACO-TEIXEIRA, Phelipe. **Conhecimentos sobre parasitoses intestinais como estratégia para subsidiar ferramentas de educação em saúde**. Rio de Janeiro, 2016. Xv, 81. Dissertação (Mestrado)- Instituto Oswaldo Cruz, Pós Graduação em Medicina Tropical.

BALDURSSON, S; KARANIS, P. Waterborne transmission of protozoan parasites: Review of worldwide outbreaks - An update 2004-2010. **Water Res.** v. 45, n.20, p.6603-14, 2011.

BARRETO, Mauricio L. et al. Impact of a citywide sanitation program in Northeast Brazil on intestinal parasites infection in young children. **Environ Health Perspect**, v. 118, n. 11, p. 1637-1642, 2010.

BRANDELLI, Clara Lia Costa et al . Intestinal parasitism and socio-environmental factors among Mbyá-Guarani indians, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil. **Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo**, v. 54, n. 3, p. 119-122, 2012.

BRASIL. Constituição (1988). **Constituição da República Federativa do Brasil**. Brasília, DF: Senado Federal: Centro Gráfico, 1988. 292 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Plano Nacional de Vigilância e Controle das Enteroparasitoses**. Secretaria de Vigilância em Saúde. Brasília: Ministério da Saúde, 2005.

Brazilian Journal of Development

BRASIL. **Censo Demográfico de 2010**. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE, 2010.

BRASIL. Ministério das Cidades. Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental – SNSA. **Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento: Diagnóstico dos Serviços de Água e Esgotos – 2016**. Brasília: SNSA/MCIDADES, 2018a. 218 p.: il.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Guia Prático para o Controle das Geo-helminthiases** [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. – Brasília: Ministério da Saúde, 2018b. 33 p.: il.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Coordenação Geral de Hanseníase E Doenças Em Eliminação. Informe Técnico e Operacional. **“V Campanha Nacional de Hanseníase, Verminoses, Tracoma e Esquistossomose”**. Brasília, outubro de 2017. 17pp.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância de Doenças e Agravos Não Transmissíveis e Promoção da Saúde. **Saúde Brasil 2014: uma análise da situação de saúde e das causas externas** / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância de Doenças e Agravos Não Transmissíveis e Promoção da Saúde. – Brasília: Ministério da Saúde, 2015. 462 p.: il.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância em Doenças Transmissíveis. **Plano integrado de ações estratégicas de eliminação da hanseníase, filariose, esquistossomose e oncocercose como problema de saúde pública, tracoma como causa de cegueira e controle das geohelminthiases: plano de ação 2011-2015** / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância em Doenças Transmissíveis. – Brasília: Ministério da Saúde, 2012.

_____. **Lei no 11.445, de 05 de janeiro de 2007**. Estabelece diretrizes nacionais para o saneamento básico e para a política federal de saneamento básico. Diário Oficial da União 2007a; 08 jan.

Brazilian Journal of Development

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção À Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Política Nacional de Atenção Básica** / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. – 4. ed. – Brasília: Ministério da Saúde, 2007b.

BRITTO, Ana Lucia; REZENDE, Sonaly Cristina. A política pública para os serviços urbanos de abastecimento de água e esgotamento sanitário no Brasil: financeirização, mercantilização e perspectivas de resistência. **Cad. Metrop. São Paulo**, v. 19, n. 39, p. 557-581, 2017.

BUSS, Paulo Marchiori. Globalização, pobreza e saúde. **Ciênc. saúde coletiva, Rio de Janeiro**, v. 12, n. 6, p. 1575-1589, 2007.

CAPELLA, Gabriela de Almeida et al. Environmental contamination by parasitic forms in a socially vulnerable community in southern Rio Grande do Sul state: a serious public health problem. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci. (Online)**, v. 55, n. 2, 2018.

CARDOSO, Biatriz Araújo et al. Environmental aspects related to tuberculosis and intestinal parasites in a low-income community of the Brazilian Amazon. **Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo**, v. 59, e57, 2017.

CARVALHO, Sônia Aparecida de. O direito fundamental ao saneamento básico como garantia do mínimo existencial social e ambiental. **Revista Brasileira de Direito, IMED**, v. 8, n2, 2012.

CDC- **Centers For Disease Control And Prevention**, 2018. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/parasites/ascariasis/biology.html>>. Acesso em 21/03/2019.

COELHO, Camila Henriques et al. Giardiasis as a neglected disease in Brazil: Systematic review of 20 years of publications. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 11, 2017.

CORONATO-NUNES, Beatriz et al. Spatial and Molecular Epidemiology of *Giardia intestinalis* Deep in the Amazon, Brazil. **PLoS One**, v. 11, n. 7, e0158805, 2016.

D'ÁVILA, Luciana Souza; SALIBA, Graciane Rafisa. A EFETIVAÇÃO DO DIREITO À SAÚDE E SUA INTERFACE COM A JUSTIÇA SOCIAL. **Revista de Direito Sanitário**, v. 17, n. 3, p. 15-38, 2017.

DAMAZIO, Schayra Minine et al. Intestinal parasites in a quilombola community of the Northern State of Espírito Santo, Brazil. **Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo, São Paulo**, v. 55, n. 3, p. 179-183, 2013.

FANTINATTI, Maria et al. Identification of *Giardia lamblia* Assemblage E in Humans Points to a New Anthrozoootic Cycle. **J Infect Dis.** v. 214, n.8, p.1256-9, 2016.

FANTINATTI, Maria. Zoonotic potential of *Giardia lamblia* and control of giardiasis. **Insights in Veterinary Science**, v. 3, p. 1-4, 2019.

FONSECA, Eduardo Oyama Lins et al. Prevalência e fatores associados às geo-helmintíases em crianças residentes em municípios com baixo IDH no Norte e Nordeste brasileiros. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 26, n. 1, p. 143-152, 2010.

FONSECA, Renata Elizabete Pagotti da; BARBOSA, Michelle Christiane Rodrigues; FERREIRA, Beatriz Rossetti. High prevalence of enteroparasites in children from Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil. **Rev. Bras. Enferm.**,v. 70, n. 3, p. 566-571, 2017.

FREI, Fernando; JUNCANSEN, Camila; RIBEIRO-PAES, João Tadeu. Epidemiological survey of intestinal parasite infections: analytical bias due to prophylactic treatment. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 12, p. 2919-2925, 2008.

GIL, Antônio Carlos. **Como elaborar projetos de pesquisa**. 5.ed., São Paulo: Atlas, 2010.

IGNACIO, Caroline Ferraz et al. Socioenvironmental conditions and intestinal parasitic infections in Brazilian urban slums: a cross-sectional study. **Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo**, São Paulo, v. 59, e56, 2017.

IGNACIO, Caroline Ferraz; LIMA-BARATA, Martha Macedo de; MORAES-NETO, Antonio Henrique Almeida de. The Brazilian Family Health Strategy and the management of intestinal parasitic infections. **Prim Health Care Res Dev.** v. 19, n. 4, p.333-343, 2018.

KORKES, Fernando et al. Relationship between intestinal parasitic infection in children and soil contamination in an urban slum. **Journal of Tropical Pediatrics**, v. 55, n.1, p. 42-5, 2009.

LIMA JUNIOR, Oswaldo Aparecido de; KAISER, Juliana; CATISTI, Rosana. High occurrence of giardiasis in children living on a 'landless farm workers' settlement in Araras, São Paulo, Brazil. **Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo**, São Paulo, v. 55, n. 3, p. 185-188, 2013.

MATA-SANTOS, Tais et al. Prevalência de enteroparasitas em crianças atendidas em unidades básicas de saúde em uma cidade do sul do Brasil. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 72, n. 2, p. 175-178, 2013.

MATI, Vitor Luis Tenório; PINTO, João Henrique; MELO, Alan Lane de. Levantamento de parasitos intestinais nas áreas urbana e rural de Itambé do Mato Dentro, Minas Gerais, Brasil. **Revista de Patologia Tropical**, v. 40, n.1, p. 92-100, 2011.

MENEZES, Valesca Francisco Pinto; MEDEIROS, Niara da Silva; DANI, Caroline. Prevalência de enteroparasitoses em escolares: uma revisão do perfil encontrado nas diferentes regiões do Brasil. **REVISTA UNIARA**, v. 15, n.2, p.7-12, 2012.

MINE, Júlio César; ROSA, João Aristeu da. Frequency of *Blastocystis hominis* and other intestinal parasites in stool samples examined at the Parasitology Laboratory of the School of Pharmaceutical Sciences at the São Paulo State University, Araraquara. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Uberaba, v. 41, n. 6, p. 565-569, 2008.

MONTEIRO, Kerla Joeline Lima et al. Focal persistence of soil-transmitted helminthiasis in impoverished areas in the State of Piauí, Northeastern Brazil. **Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo**, São Paulo, v. 60, e24, 2018.

MORAES- NETO, Antonio Henrique A. de et al. Prevalence of intestinal parasites versus knowledge, attitudes, and practices of inhabitants of low-income communities of Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro State, Brazil. **Parasitol Res.**, v. 107, p. 295–307, 2010.

MORAES, Luiz Roberto Santos. Household solid waste bagging and collection and their health implications for children living in outlying urban settlements in Salvador, Bahia State, Brazil. **Cad. Saúde Pública**, v. 23, supl. 4, p. S643-S649, 2007.

MOURA, Fabiana de Toledo et al. Enteroparasite contamination in peridomiciliar soils of two indigenous territories, State of Paraná, southern Brazil. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 27, n. 6, p. 414-422, 2010.

NEVES, David Pereira. **Parasitologia Humana**. 13. ed. São Paulo, 2016.

ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. **Directrices: Quimioterapia preventiva para controlar las geohelmintiasis en grupos de población em riesgo**. Ginebra, 2018.

PAIVA, Roberta Fernanda da Paz de Souza; SOUZA, Marcela Fernanda da Paz de. Associação entre condições socioeconômicas, sanitárias e de atenção básica e a morbidade hospitalar por doenças de veiculação hídrica no Brasil. **Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro**, v. 34, n. 1, e00017316, 2018.

SANTOS, Claudimary Bispo et al. Diarrhea incidence and intestinal infections among rotavirus vaccinated infants from a poor area in Brazil: a spatial analysis. **BMC Public Health**, v. 14, n. 399, 2014.

SEGUÍ, Raimundo et al. Prevalence of intestinal parasites, with emphasis on the molecular epidemiology of *Giardia duodenalis* and *Blastocystis* sp., in the Paranaguá Bay, Brazil: a community survey. **Parasit Vectors**, v. 11, n. 1, 2018.

SILVA, Jefferson Conceição et al. Parasitismo por *Ascaris lumbricoides* e seus aspectos epidemiológicos em crianças do Estado do Maranhão. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Uberaba, v. 44, n. 1, p. 100-102, 2011.

SILVA, Juliana Vasconcelos Lyra da et al. Factors Associated with Gastrointestinal Parasitic Infections among Young Population in Northeast Brazil. **Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology**, 6239434, 2016.

SILVA, Patrícia Vieira da et al. Enteroparasites in Riverside Settlements in the Pantanal Wetlands Ecosystem. **Journal of Parasitology Research**, 6839745, 2018.

Brazilian Journal of Development

SIMÕES, Bárbara dos Santos et al. Environmental conditions and prevalence of parasitic infection in Xukuru-Kariri indigenous people, Caldas, Brazil. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 38, n. 1, p. 42-48, 2015.

SOARES, Cassia Baldini et al. Revisão integrativa: conceitos e métodos utilizados na enfermagem. **Rev. esc. enferm. USP**, São Paulo, v. 48, n. 2, p. 335-345, 2014.

SOUZA, Fabiana Dantas de; MAMEDE-NASCIMENTO, Thiago Leandro; SANTOS, Carlos Silveira dos. Encontro de ovos e larvas de helmintos no solo de praças públicas na zona sul da cidade do Rio de Janeiro. **Rev Patol Trop**. v. 36, n.3, p247-253, 2007.

TEMPONI, Andrea Oliveira Dias et al. Ocorrência de casos de leishmaniose tegumentar americana: uma análise multivariada dos circuitos espaciais de produção, Minas Gerais, Brasil, 2007 a 2011. **Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro**, v. 34, n. 2, e00165716, 2018.

TOLEDO, Max Jean de Ornelas et al. Avaliação de atividades de controle para enteroparasitos em uma aldeia Kaingáng do Paraná. **Rev. Saúde Pública**, v. 43, n. 6, p. 981-990, 2009.

VASCONCELOS, Izabel Alencar Barros et al. Prevalência de parasitoses intestinais entre crianças de 4-12 anos no Crato, estado do Ceará: um problema recorrente de saúde pública. **Acta Scientiarum. Health Sciences**, v. 33, n. 1, p. 35-41, 2011.

VISSER, Silvia et al . Estudo da associação entre fatores socioambientais e prevalência de parasitose intestinal em área periférica da cidade de Manaus (AM, Brasil). **Ciênc. saúde coletiva**, v. 16, n. 8, p. 3481-3492, 2011.

WHITTEMORE, Robin; KNAFL, Kathleen. The integrative review: updated methodology. **J Adv Nurs**, vol. 52, n. 5, p. 546-53, 2005.

WHO 2012. **Soil-transmitted helminthiases: eliminating soiltransmitted helminthiases as a public health problem in children: progress report 2001-2010 and strategic plan 2011-2020**. Geneva: World Health Organization. Disponível em: http://whqlibdoc.who.int/publications/2012/9789241503129_eng.pdf.

Brazilian Journal of Development

ZVEIBIL, Victor Zular. Saneamento Básico: novas oportunidades para os municípios / Saneamiento Básico: nuevas oportunidades para los municipios. **Rev. Adm. Munic.** v. 53, n. 265, 2008.

Apêndice 5. Artigo 4 " Recirculation of *Giardia lamblia* Assemblage A After Metronidazole Treatment in an Area With Assemblages A, B, and E Sympatric circulation



Recirculation of *Giardia lamblia* Assemblage A After Metronidazole Treatment in an Area With Assemblages A, B, and E Sympatric Circulation

Maria Fantinatti^{1*}, Luiz Antonio Pimentel Lopes-Oliveira¹, Tiara Cascais-Figueiredo¹, Felipe Austriaco-Teixeira¹, Erika Verissimo², Alexandre Ribeiro Bello² and Alda Maria Da-Cruz^{1,2*}

¹ Laboratório Interdisciplinar de Pesquisas Médicas, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brazil

² Disciplina de Parasitologia, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil

OPEN ACCESS

Edited by:

Thomas Dandekar,
Julius Maximilian University
of Würzburg, Germany

Reviewed by:

Stefan Gunnar Svalert,
Uppsala University, Sweden
Marianna Messing,
University of Foggia, Italy

*Correspondence:

Maria Fantinatti
fantinatti@ioc.fiocruz.br;
maria.fantinatti@gmail.com
Alda Maria Da-Cruz
alda@ioc.fiocruz.br

Specialty section:

This article was submitted to
Infectious Diseases,
a section of the journal
Frontiers in Microbiology

Received: 09 June 2020

Accepted: 31 August 2020

Published: 22 October 2020

Citation:

Fantinatti M, Lopes-Oliveira LAP,
Cascais-Figueiredo T,
Austriaco-Teixeira F, Verissimo E,
Bello AR and Da-Cruz AM (2020)
Recirculation of *Giardia lamblia*
Assemblage A After Metronidazole
Treatment in an Area With
Assemblages A, B, and E Sympatric
Circulation.
Front. Microbiol. 11:571104.
doi: 10.3389/fmicb.2020.571104

Giardia lamblia is an intestinal protozoan subdivided into eight assemblages, labeled alphabetically from A to H. Assemblages A, B, and E infect humans and can have a sympatric circulation. We investigated the assemblage recirculation in children living within a high prevalence area of *Giardia* infection. One hundred and ninety-four children were evaluated and 85 tested positive for *Giardia* by PCR. These infected individuals were recruited, treated with metronidazole and then reexamined for infections at 20 and 40 days after treatment that included PCR and the genotyping was performed by sequencing beta-giardin and glutamate dehydrogenase gene targets. *Giardia* assemblages A ($n = 43$), B ($n = 21$), E ($n = 17$), and A/E ($n = 4$) were identified in infected children. Assemblage A was found in all recurrences of infection, including four that had been infected by assemblages B and E. Since both persistence and reinfection could account for the results, the level of nucleotide homology was determined before and after treatment. Most suggested that reinfections were by the same strain, but four presented a distinct genotypic profile. The results suggest that the differences in the genotypic profiles were due to reinfections, which appear to occur with frequency in high *Giardia* burden areas and soon after the end of therapy. It is not yet possible to define whether the recurrent cases were related to parasite resistance. However, the evidence of rapid reinfections and ready availability of treatment raises the potential for creating resistant strains. This highlights the need to address how *Giardia* burden is maintained within high prevalence areas.

Keywords: *Giardia lamblia*, assemblage, metronidazole, reinfection, parasite persistence, resistance

INTRODUCTION

Giardia lamblia is a flagellated protozoan that infects the small intestine of a broad spectrum of mammalian hosts. It is transmitted by a fecal-oral route that is closely associated with poor sanitary conditions. Recent surveys estimate that over 183 million individuals infected by *Giardia* in the world (Torgerson et al., 2015).

Phylogenetically, *G. lamblia* is divided into eight assemblages labeled alphabetically from A to H. Humans are mainly infected by assemblages A and B (Adam, 2001; Feng and Xiao, 2011; Cacciò et al., 2018). The presence of assemblage E has also been detected although at a much lower frequency than A and B (Fantinatti et al., 2016; Scalia et al., 2016; Zahedi et al., 2017). The specific characteristics of each of the different assemblages raises the possibilities for unique factors associated with virulence, pathogenesis and drug susceptibility. However, as an infection is often asymptomatic, the diagnosis and treatment of infected individuals can be difficult.

In Brazil, the main class of drugs recommended for the treatment of giardiasis is 5-nitroimidazole. Despite their effectiveness, 5-nitroimidazole drugs share a number of side effects (Gardner and Hill, 2001). The most commonly used drug is metronidazole due to its low cost and easy access. Although treatment with metronidazole appears to be effective in a majority of infections, there is emerging evidence for an increased frequency of therapeutic failure (Tejman-Yarden and Eckmann, 2011; Leitsch, 2015). In London, United Kingdom, an exorbitant increase in persistent parasitic infection following 5-nitroimidazole treatment was reported covering the period 2008 to 2013 where therapeutic failure increased from 15.1 to 40.2% (Nabarro et al., 2015). A number of reasons can be attributed to this apparent increase such as inadequate dosages, incomplete treatment regimens, immunosuppression or drug resistance (Lemée et al., 2000; Gardner and Hill, 2001; Nash et al., 2001; Escobedo et al., 2014).

In Brazil, *Giardia* infection is spread over the country and the estimated point prevalences may reach over 50% in areas of social and sanitary vulnerability (Coelho et al., 2017). It points to that transmission rate of the parasite is high. On the other hand, to date, the occurrence of persistent infection is unknown. We hypothesize that the biological characteristics of each of the circulating assemblages could influence their detected incidence and drug susceptibility. The current study was undertaken to investigate the circulation of *G. lamblia* assemblages in an area with a high prevalence of infection after treatment of parasitized individuals with metronidazole.

MATERIALS AND METHODS

Sample Collection, Parasite Diagnosis, and Treatment

The study was performed on a daycare center located within an economically challenged community of Rio de Janeiro, Brazil. A total of 194 children in this day care center of ages from 10 months to 4 years old were evaluated for 2 years. A child was only included in the research after a parent accepted an invitation to participate signed a Term of Free and Informed Consent, which was approved by an Institutional ethical review board (number CAAE:19705613.9.0000.5248) and included full disclosure of benefits and risks. A single initial stool sample was collected from each patient for the diagnosis of geohelminths and protozoa. The samples were submitted to parasitological examination of feces by Ritchie and Kato-katz techniques.

Additionally, a molecular diagnosis by PCR was performed to identify the presence of *Giardia* DNA (see below).

Individuals with a positive diagnosis for pathogenic parasites were treated according to guidelines of the Brazilian ministry of health. For *Giardia* infections, patients were given metronidazole 15 mg/kg/day orally (maximum 250 mg) for 5 or 7 days in cases of treatment failure. Around 20–35 days after treatment, a new sample was collected to define cure control. Individuals who remained positive were submitted to a second cycle of metronidazole treatment and then reevaluated after 20 days (second cure control). The diagnostic methodology of the samples of the cured controls were the same used in the first examination.

DNA Extraction and Molecular Characterization of *G. lamblia*

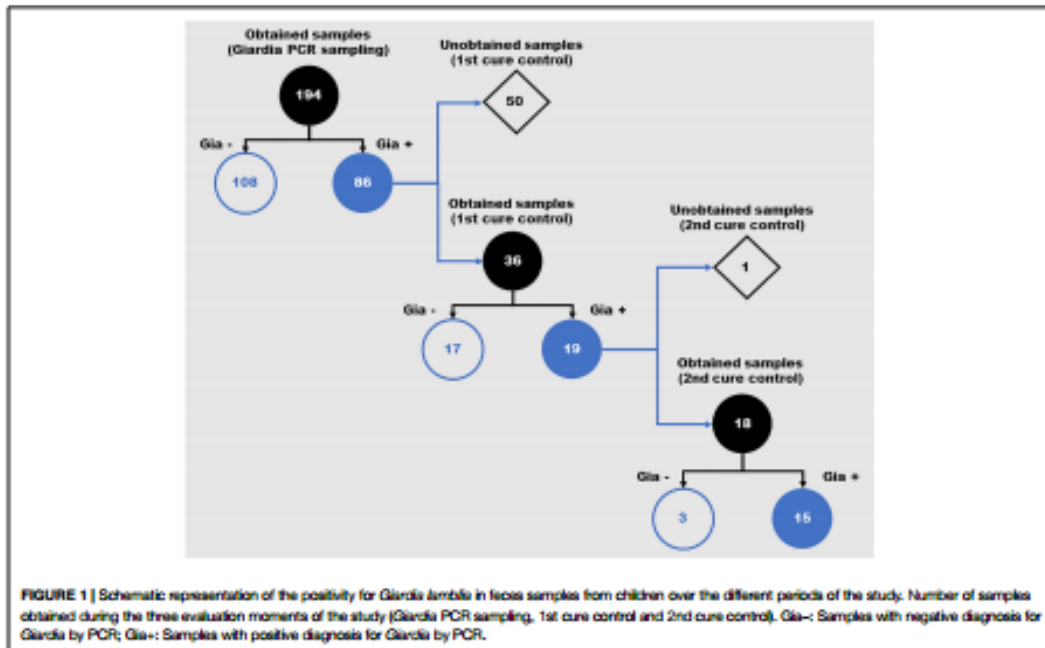
Samples were stored at -20°C until molecular diagnosis and characterization. DNA extraction from cysts was performed directly from the stool using the QIAamp DNA Stool mini kit (Qiagen, Germany), mostly according to the manufacturer's instructions. Two exceptions were lysis temperature, which was increased to 95°C , and the volume of AE buffer used for DNA elution, which was decreased to 100 μL . Isolated DNA was stored at -20°C until the time of use.

For genotyping of *G. lamblia*, regions of the conserved genes coding for glutamate dehydrogenase (*gdh*) and Beta-giardin (*β -gia*) were utilized. Extracted DNA was submitted to PCR and nested PCR (secondary PCR), in a final volume of 50 μL of reaction containing 1X PCR buffer, 3 mM of MgCl_2 , 2.5 U of Taq DNA Polymerase (Invitrogen Life Technologies, Brazil), 200 μM of triphosphate deoxyribonucleotides dNTP (Invitrogen Life Technologies, Brazil) and 0.2 μM of each primer.

For amplification of the *gdh* target, primers were used in primary PCR: GDH 1 (TTCCGTRTYCAGTACAACCTC) and GDH 2 (ACCTCGTTCTGRGTGGCGCA) and in secondary PCR: GDH3 (ATGACYGAGCTYCAGAGGCACGT) and GDH4 (GTGGCGCARGGCATGATGCA), according to Cacciò et al., 2008. For amplification of the *β -gia* target, primers were used in primary PCR: G7 (AAGCCCGACGACCTCACCCGACAGTGC) and G759 (GAGCCCGCCCTGGATCTTCGAGACGAC) and in secondary PCR: B-GIAP (GAACGAACGAGATCGAGGTCGG) e B-GIAR (CTCGACGAGCTTCGTGTT), according to Cacciò et al., 2002 and Lalle et al., 2005, respectively.

As a positive control, DNA extracts from axenic cultures of the C6 clone of the WB strain of *G. lamblia* (ATCC 50803) were used. Negative controls included DNA extracted from axenic cultures of *Entamoeba histolytica* and *Trichomonas vaginalis*. Successful amplification was verified by agarose gel electrophoresis at 1% concentration.

PCR products for each pair of primers were purified using the NucleoSpin Gel and PCR Clean-up kit (Macherey-Nagel, Germany) according to manufacturer's instructions with the exception of incubation time in NE buffer, which was raised to 5 min. The purified products were subjected to sequencing in both directions in triplicate using the BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, Foster City,



United States). Following precipitation of the reaction, samples were analyzed at the DNA Sequencing Platform sequencing service of FIOCRUZ (Otto et al., 2007). Each experiment was performed in triplicate.

Resulting electropherograms were analyzed for quality in the program Chromas 2.4. Sequence characterization was performed using the Basic Local Alignment Search Tool using nucleotide (BLASTn) and the consensus was obtained by the CAP3 Sequence Assembly¹ Program. The nucleotide sequences of *gdh* and β -*gia* from *G. lamblia* were aligned by the algorithm CLUSTAL W (Thompson et al., 1994) in the Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) 7.0 package (Kumar et al., 2016).

The phylogenetic analysis was performed using the MEGA 7.0 program and the distance estimation used was based on the equation by Jin and Nei (1990) using Kimura model 2-parameters). Sequences of novel isolates in clinical samples were aligned using GenBank *G. lamblia* sequences belonging to assemblages A, B, and E. As outgroups, sequences from *G. psittaci*, *G. muris*, and *T. vaginalis* were used. The respective accession numbers of the sequences are between vertical bars in the phylogenetic trees. Additionally, the sequences of the *gdh* and β -*gia* gene fragments were concatenated and the bootstrap above 60% was reported.

Phylogenetic trees were constructed using the neighbor-joining algorithm (Saitou and Nei, 1987). The best

¹<http://dona.psu.edu/software/cap3>

statistical model was defined from the lowest BIC value found in the MEGA (Kumar et al., 2016), where Kimura 2-parameter was chosen for both genes. For each construct, the veracity of each branch was conferred by the confidence limit by bootstrap analysis (1000 repetitions) (Felsenstein, 1985). The characteristic of *G. lamblia* sequence obtained from GenBank and used as a reference for the construction of *gdh* and β -*gia* genes phylogenetic tree were presented in Supplementary Table 2.

The Recombination Detection Program version 4 (RDP4) software was used to verify recombination events in our isolates from clinic samples, using the alignment of concatenated sequences for *gdh* and β -*gia* genes (Martin et al., 2015). The existence of unique events recombination was verified by multiple methods (RDP, GENECONV, BootScan, MaxiChi, Chimera, SiScan, and 3Seq).

Evaluation of Nucleotides Sequence in *G. lamblia* Trophozoites Continuously Exposed to Metronidazole *in vitro*

Giardia lamblia trophozoites from W6 clone, WB strain [ATCC50803], were cultured at 37°C in TYI-S-33 medium at pH 7.0 supplemented with 10% inactivated fetal bovine serum (Cultilab, Campinas, Brazil). Trophozoites were continuously exposed to metronidazole (MTZ) (Sigma Chemical Co., St. Louis, United States) for a minimum of 16 weeks. Experimental groups were defined by MTZ exposure concentration: group 1 (MTZ5), 5 μ M; group (MTZ10) 2, 10 μ M; group 3 (MTZ20),

20 μ M; group 4 (SMTZ), no exposure to metronidazole; and group 5 (CDMSO), exposed to 0.05% dimethylsulfoxide (Sigma, United States), the vehicle for MTZ dilution. The concentration required to inhibit 50% parasitic growth (IC_{50}), was determined using the methodology described by Bénére et al., 2007. The assays for each experimental group were performed in triplicate and the IC_{50} results were determined using Prism 6.0 software (GraphPad²). The ANOVA test was used for statistical analysis.

At the end time point, *G. lamblia* trophozoite DNA was extracted using DNAzol (1 mL/10⁷ parasites; Invitrogen, Carlsbad, CA, United States). Sequences of *gdh* and β -*gla* were obtained and analyzed as described above.

RESULTS

Frequency of *G. lamblia* Infection and Determination of Parasite Persistence After Treatment

A total of 194 stool samples were collected from children, 109 females and 85 males. In the first examination, the following parasites were found: *Ascaris lumbricoides* (15/194 = 7.73%), *Entamoeba histolytica/dispar* (4/194 = 2.06%), *Entamoeba coli* (5/194 = 2.58%), *Endolimax nana* (13/194 = 6.70%) and *G. lamblia* (86/194 = 44.33%) (Supplementary Table 1). All individuals positive for *G. lamblia* were treated with metronidazole and, after treatment, 36 remained in the study group for evaluation. Nineteen cases presented as a persistent infection after treatment and underwent a second cycle of treatment with metronidazole. In the determination of the second cure control, 18 individuals were reevaluated. Of these, fifteen still presented a positive diagnosis for *G. lamblia* (Figure 1). These cases were individually monitored for other clinical approaches.

Genotyping of *G. lamblia* Circulating in Preschoolers Before and After Treatment

The *G. lamblia* DNA isolated from the 86 children positive at the initial diagnosis were genotyped using both *gdh* and β -*gla* as targets. We observed a great genetic variability among the isolates from samples. From the consensus sequences, samples were grouped as: 40 isolates in assemblage A, 21 isolates in assemblage B, 17 isolates in assemblage E and 4 isolates showing characteristics of both assemblage A and E (Figures 2, 3). Many differences were observed in subassemblages characterization AI and AII.

From the first cure control exam, 36 diagnosed cases were still positive for *Giardia* infection and were reevaluated. Based on the initial determination of the assemblage group, 19 isolates were from assemblage A, 5 isolates from assemblage B, 9 isolates from assemblage E and 3 isolates from assemblage A/E. After the second course of treatment, 13 of 19 assemblage A, 2 of 5 assemblage B, 2 of 9 assemblage E and 2 of the 3 assemblage A/E children were still positive. Genotyping showed that 18 of them were grouped as assemblage A (Table 1 and Figure 3 and Supplementary Figure 1). Curiously, the assemblages B or

E were not found among positive individuals (Figure 2 and Supplementary Figure 1).

Among the individuals infected by assemblage A (11 subjects) in the first evaluation and in the first cure control, 9 isolates presented 100% of identity between the isolates from samples before and after treatment for the two gene targets used (*gdh* and β -*gla*). Three individuals presented a genotypic divergence between the isolates from first evaluation analyzed and the first cure control. Two showed differences in the β -*gla* gene and other showed differences in the *gdh* target.

After the 2nd course of treatment, 15 cases continued to be positive with 13 isolates being grouped to the assemblage A, which included the identification of a unique assemblage. All sequences from second cure control showed 100% identity with the sequence from the same individual in the first cure control.

Three samples that were positive after treatment, one from the 1st cure control and two were from the 2nd cure control groups, were amplified but not characterized. Three other isolates were genotyped only based on *gdh* gene.

Among the individuals that presented isolates grouped as assemblage A in the first exam and in the successive cure controls, 8 cases showed 100% identity of the isolates at all three moments of analysis.

Using RDP4, the number of possible unique events recombination among concatenated sequences was different according to the detection method (RDP: 13, GENECONV: 15, BootScan: 9, MaxiChi: 9, Chimera: 11, SiScan: 20, 3Seq: 19). In region of β -*gla* gene, few recombination events were found (RDP: 0, GENECONV: 1, BootScan: 0, MaxiChi: 1, Chimera: 1, SiScan: 1, 3Seq: 2). The major number of recombination was observed in the *gdh* gene region (RDP: 13, GENECONV: 9, BootScan: 6, MaxiChi: 6, Chimera: 6, SiScan: 9, 3Seq: 13). Both isolates of assemblage B and assemblage E presented one recombination event. Demonstrating the same phylogenetic profile among isolates from each assemblage cluster. All other recombination events were observed in assemblage A for the *gdh* target.

No Changes in Nucleotides Sequences of *gdh* and β -*gla* From *G. lamblia* Trophozoites Were Observed After *in vitro* Exposure to Metronidazole

The IC_{50} values of the groups MTZ5, MTZ10, and MTZ20 were significantly higher than those presented by the control groups SMTZ and CDMSO. No differences on the nucleotide sequences were observed among the groups (Lopes-Oliveira et al. submitted). These results demonstrated that despite a profound interference on the survival of the parasite, MTZ does not induce alterations in the conserved genes evaluated.

DISCUSSION

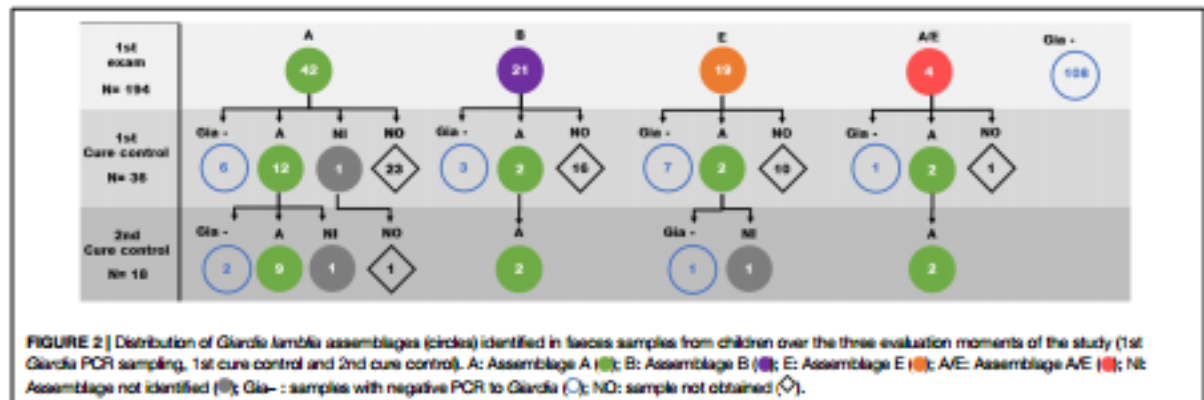
The *G. lamblia* transmission is more prevalent in areas without basic sanitation (water treatment and sewage networks), which is a reality in low-income areas of Brazil. Intraspecies and interspecies contact can contribute to the spread of giardiasis (Feng and Xiao, 2011), a reality in low-income regions where

²www.graphpad.com/scientific-software/prism

TABLE 1 | Giardia lamblia assemblages found at first diagnosis and after treatment.

Cases who realized 1st examination	Cases diagnosed as Giardia infection by PCR (number of samples)	Cases who realized 2nd evaluation	1st cure control (number of samples)	Cases who realized 3rd evaluation	2nd cure control (number of samples)
194	PCR Negative (n = 108)	–	–	–	–
	Assemblage A (n = 42 cases)	19	PCR Negative (n = 8)	–	–
			Assemblage A (n = 12)	12	PCR Negative (n = 2) Assemblage A (n = 2) Not identified (n = 1)
			Not identified (n = 1)	–	–
	Assemblage B (n = 21 cases)	5	PCR Negative (n = 3)	–	–
			Assemblage A (n = 2)	2	Assemblage A (n = 2)
	Assemblage E (n = 19 cases)	9	PCR Negative (n = 7)	–	–
			Assemblage A (n = 2)	2	PCR Negative (n = 1) Not identified (n = 1)
	Assemblage A/E (n = 4 cases)	3	PCR Negative (n = 1)	–	–
			Assemblage A (n = 2)	2	Assemblage A (n = 2)

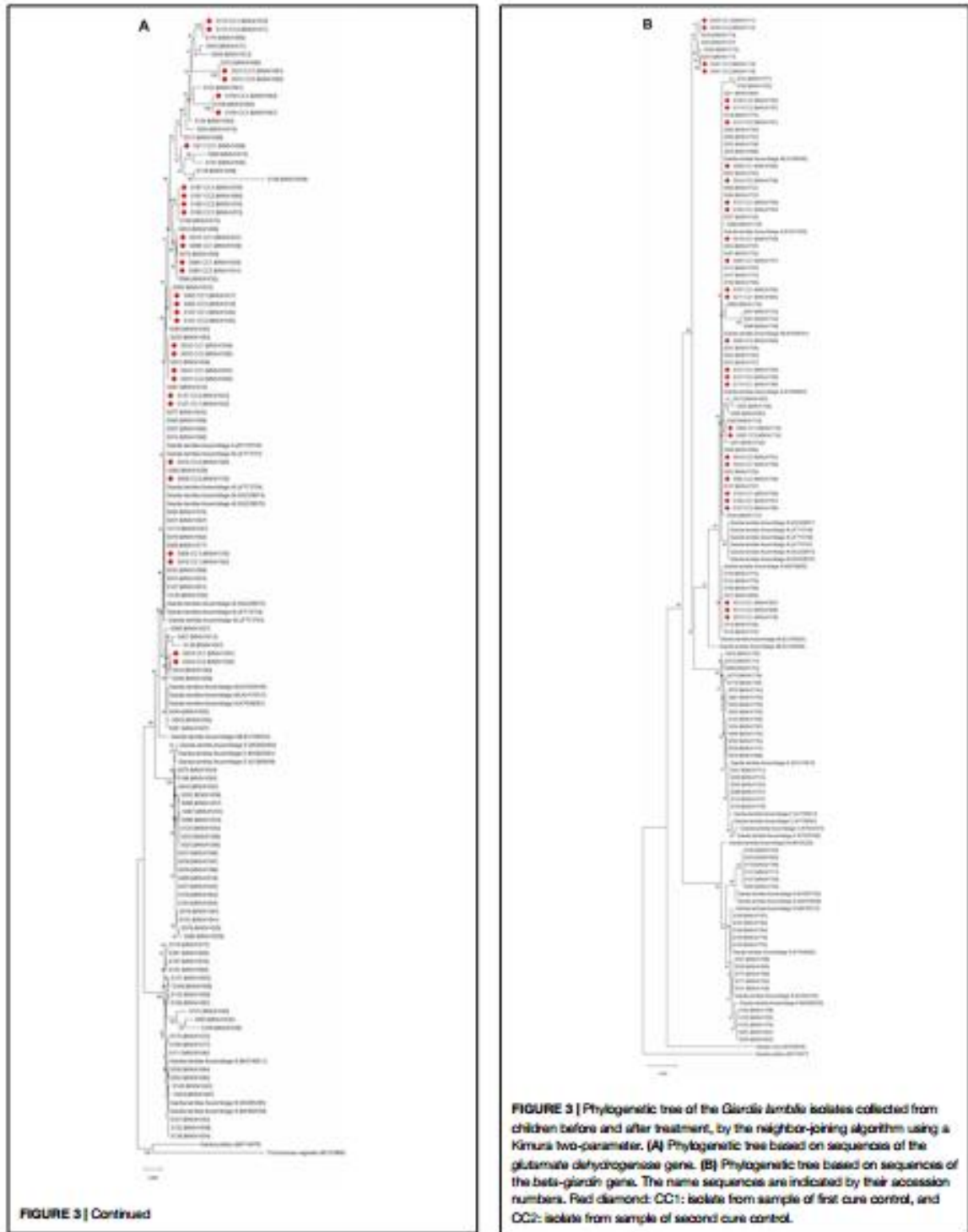
–: no samples were obtained.



cats and dogs can freely roam and livestock might be present. These multiple sources can increase the risk of infection, along with reinfection by *G. lamblia* and may explain the high infection prevalence observed in the present study. However, it was not known whether *Giardia* assemblage profile is associated with the infection burden.

Here, the three assemblages of *G. lamblia* (A, B, and E) that have been reported in humans were identified. A high rate of convergence between the gene targets (*gdh* and β -*gla*) used for genotyping was observed in our study. As the genes used for genotyping are considered conserved, a good discriminatory

potential among the assemblages is expected (Ryan and Cacciò, 2013). However, the low nucleotide variability observed among subassemblages A questions the efficiency of these gene targets to characterize isolates in AI and AII, mainly (Lebbad et al., 2010, 2011; Ankarklev et al., 2018). Few nucleotide changes could be insufficient or sufficient to differentiation into subassemblages. Using the detection method to identify possible unique events recombination, the β -*gla* gene proved to be more conserved than the *gdh* gene. The high rate of recombination observed in assemblage A of the *gdh* gene points to high variability among isolates of this assemblage in this study. This justifies the



divergence of characterization between the subassemblages AI and AII in the genes target. Events of recombination between subassemblages AI and AII and between assemblages A and E could occur (Xu et al., 2012; Ankarkev et al., 2018). We detected four cases of disagreement between assemblages A and E, but no recombination events were observed in this study. This disagreement among assemblages is commonly reported (Cacciò et al., 2008).

The frequency of assemblage A was higher in comparison to B or E. The few reports addressing the *Giardia* assemblages in Brazil point to regional differences in the prevalence of the predominant circulating assemblage (Coelho et al., 2017). In Rio de Janeiro, the assemblage A has been most frequently identified in humans (Volotão et al., 2007; Fantinatti et al., 2016), although assemblage B (Faria et al., 2016) and assemblage E (Fantinatti et al., 2016) have already been reported. The present results are consistent and reinforce the reported epidemiological profile of the *Giardia* assemblages in our region.

In our previous study conducted in this region, assemblage E and especially assemblage A were identified (Fantinatti et al., 2016). The results here show that the circulation of these assemblages is still current, with assemblage A being amplified throughout the environment by pets (Volotão et al., 2007; Fantinatti et al., 2018). However, the identification of assemblage B circulating in infected children had not been verified, although the first identification of assemblage B in Rio de Janeiro was reported in the same period (Faria et al., 2016). Further studies of environmental samples could help to understand the predominance of assemblage A.

In Brazil, the drug most often used by the public health service for the treatment of giardiasis is metronidazole and, in most cases, treatment is effective. However, the actual therapeutic failure rate of metronidazole in Brazil is still unknown. Our observed rate of continued infection after metronidazole treatment was considered high as 19 out of 36 re-evaluated children were infected at the first cure control. This continued after the second cure control where 15 out of 18 were positive. The positive cases in cure controls may be the result of therapeutic failure (drug subdose, parasite resistance) or reinfection (Argüello-García et al., 2004).

The negative results after metronidazole treatment are most probably a therapeutic success. This event was observed in individuals infected by the three different assemblages. It has been suggested that a determined assemblage may be associated with prolonged giardiasis and cases of persistence of infection after treatment (Mörch et al., 2008). No isolates from cure control samples were genotyped as assemblage B or E. This can suggest that treatment was effective for elimination of these assemblages. However, it is not possible to assert that these assemblages (B and E) are more sensitive to MTZ action than assemblage A. Since gene cloning was not performed in this study, it is not possible to rule out coinfection and only one assemblage was detected by the SANGER sequencing reactions.

As the studied community presents poor housing conditions and poor basic sanitation conditions, the main hypothesis is that cases of persistent infections are the result of successive infections. This is supported by those instances where the

assemblage identified after a round of treatment was different from the first evaluation. Assemblage A was the only assemblage identified at the 1st and 2nd cure control. Considering the high frequency of assemblage A in our study area, it is most probable that reinfection would be by this assemblage. Except for three samples, 100% identity was observed between the sequences evaluated before and after in the same individual. Although the reinfection by the same assemblage cannot rule out in a short period, in our study area, in the reinfection events were expected about half of children infected by assemblages B or E in cure control (according to the first examination). This suggest the therapeutic failure and resistance should be considered.

As mentioned above, three individuals who persisted positive for assemblage A after a cycle of treatment presented a genotypic divergence between the first sample analyzed and the first cure control. The nucleotide changes were probably not a consequence of the treatment since these targets were not modified when *Giardia* trophozoites were *in vitro* exposed to different concentrations of MTZ. This suggests that these individuals were infected by another strain of the same assemblage but with a different subtype.

The findings in our study area suggest that children remain long periods infected with *G. lamblia*. The frequent episodes of reinfection and parasite persistence were remarkable findings in our study area. In areas with a high frequency of infection and reinfection, frequent use of metronidazole is also expected. However, it is not yet possible to define whether the recurrent cases were related to parasite drug resistance. Prolonged *Giardia* parasite infection can cause a reduction in fat-soluble vitamins and steatorrhea as well as stunting. The impact of giardiasis on child development reinforces the seriousness of this type of infection as a public health problem that, while mostly invisible and out of the public attention, requires greater care. The present results raise the question for areas with a high frequency of infection, could the treatment of giardiasis be exposing children to additional adverse effects from the drug while concomitantly masking the need for parasite control measures that require changes in public policies to encourage investments for improving sanitation conditions.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

The datasets presented in this study can be found in online repositories. The names of the repository/repositories and accession number(s) can be found in the article/Supplementary Material.

ETHICS STATEMENT

The studies involving human participants were reviewed and approved by Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Oswaldo Cruz (CEP FIOCRUZ/IOC). Written informed consent to participate in this study was provided by the participants' legal guardian/next of kin.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

MF: conceptualization, methodology, funding acquisition, and manuscript writing. LL-O: methodology. TC-F: methodology. PA-T: methodology. EV: methodology. AB: formal analysis. AD-C: conceptualization, funding acquisition, and manuscript writing. All authors contributed to the article and approved the submitted version.

FUNDING

This work was supported by the Instituto Oswaldo Cruz intramural funding (PAEF II-IOC-23-FIC-18-2-53), CNPq (Universal = 435015/2018-4). MF received funding from Universal/CNPq (435015/2018-4). MF was supported by a fellowship from CAPES (Brasil Sem Miséria/Brazilian Governmental Program) and CNPq (PDI). AD-C has a research fellowship from CNPq and FAPERJ (CNE).

REFERENCES

Adam, R. D. (2001). Biology of *Giardia lamblia*. *Clin. Microbiol. Rev.* 14, 447–475.

Ankarklev, J., Lebbad, M., Einarsen, E., Franzén, O., Ahola, H., Troell, K., et al. (2018). A novel high-resolution multilocus sequence typing of *Giardia intestinalis* assemblage A isolates reveals zoonotic transmission, clonal outbreaks and recombination. *Infect. Genet. Evol.* 60, 7–16. doi: 10.1016/j.meegid.2018.02.012

Argüello-García, R., Cruz-Soto, M., Romero-Montoya, L., and Ortega-Pierres, G. (2004). Variability and variation in drug susceptibility among *Giardia duodenalis* isolates and clones exposed to 5-nitroimidazoles and benzimidazoles in vitro. *J. Antimicrob. Chemother.* 54, 711–721. doi: 10.1093/jac/dkh388

Bénéti, E., da Luz, R. A., Vermeesch, M., Cos, P., and Maes, L. (2007). A new quantitative *in vitro* microculture method for *Giardia duodenalis* trophozoites. *J. Microbiol. Methods* 71, 101–106. doi: 10.1016/j.mimet.2007.07.014

Cacciò, S. M., Beck, R., Lalle, M., Marincolic, A., and Pozio, E. (2008). Multilocus genotyping of *Giardia duodenalis* reveals striking differences between assemblages A and B. *Int. J. Parasitol.* 38, 1523–1531. doi: 10.1016/j.ijpara.2008.04.008

Cacciò, S. M., De Giacomo, M., and Pozio, E. (2002). Sequence analysis of the beta-giardin gene and development of a polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism assay to genotype *Giardia duodenalis* cysts from human faecal samples. *Int. J. Parasitol.* 32, 1023–1030. doi: 10.1016/s0020-7519(02)00068-1

Cacciò, S. M., Lalle, M., and Strid, S. G. (2018). Host specificity in the *Giardia duodenalis* species complex. *Infect. Genet. Evol.* 66, 335–345. doi: 10.1016/j.meegid.2017.12.001

Coelho, C. H., Durigan, M., Leal, D. A. G., Schneider, A. B., Franco, R. M. B., and Singer, S. M. (2017). Giardiasis as a neglected disease in Brazil: systematic review of 20 years of publications. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 11:e0006005. doi: 10.1371/journal.pntd.0006005

Escobedo, A. A., Haney, K., Almiral, P., Cimerman, S., and Alfonso, M. (2014). Management of chronic *Giardia* infection. *Expert Rev. Anti. Infect. Ther.* 12, 1143–1157. doi: 10.1586/14787210.2014.942283

Fantinatti, M., Bello, A. R., Fernandez, O., and Da-Cruz, A. M. (2016). Identification of *Giardia lamblia* assemblage E in humans points to a new anthrozoosomotic cycle. *J. Infect. Dis.* 214, 1256–1259. doi: 10.1093/infdis/jw0261

Fantinatti, M., Casca, A. C., Bello, A. R., Fernandez, O., and Da-Cruz, A. M. (2018). The presence of *Giardia lamblia* assemblage A in dogs suggests an anthrozoosomotic cycle of the parasite in Rio de Janeiro, Brazil. *Infect. Genet. Evol.* 65, 265–269. doi: 10.1016/j.meegid.2018.07.025

ACKNOWLEDGMENTS

We are profoundly grateful to Elizabeth Salgado and the nursery team, for their unconditional support for the recruitment of children, and to the Clínica da Família team, from CMS Heitor Beltrão-SMS-RJ for the clinical assistance. We are indebted to Dr. W. Provance for his valuable critical review and English edition. We wish to thank the Sequencing Service DNA Sequencing Platform = Fundação Oswaldo Cruz. Finally, we are indebted to Dr. Octavio Fernandes for providing us the basis of this research line.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

The Supplementary Material for this article can be found online at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2020.571104/full#supplementary-material>

Faria, C. P., Zanini, G. M., Dias, G. S., da Silva, S., and Sousa, M. C. (2016). Molecular characterization of *Giardia lamblia*: first report of assemblage B in human isolates from Rio de Janeiro (Brazil). *PLoS One* 11:e0160762. doi: 10.1371/journal.pone.0160762

Felsenstein, J. (1985). Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39, 783–791. doi: 10.2307/2408678

Feng, Y., and Xiao, L. (2011). Zoonotic potential and molecular epidemiology of *Giardia* species and giardiasis. *Clin. Microbiol. Rev.* 24, 110–140. doi: 10.1128/cmr.00033-10

Gardner, T. R., and Hill, D. R. (2001). Treatment of giardiasis. *Clin. Microbiol. Rev.* 14, 114–128.

Jun, L., and Nei, M. (1990). Limitations of the evolutionary parsimony method of phylogenetic analysis. *Mol. Biol. Evol.* 7, 82–102.

Kumar, S., Stecher, G., and Tamura, K. (2016). MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol. Biol. Evol.* 33, 1870–1874. doi: 10.1093/molbev/mw054

Lalle, M., Pozio, E., Capelli, G., Bruschi, F., Crotti, D., and Cacciò, S. M. (2005). Genetic heterogeneity at the beta-giardin locus among human and animal isolates of *Giardia duodenalis* and identification of potentially zoonotic subgenotypes. *Int. J. Parasitol.* 35, 207–215. doi: 10.1016/j.ijpara.2004.10.022

Lebbad, M., Mattsson, J. G., Christenson, B., Ljungström, B., Backhaus, A., Andersson, J. O., et al. (2010). From mouse to mouse: multilocus genotyping of *Giardia* isolates from various animal species. *Vet. Parasitol.* 168, 231–239. doi: 10.1016/j.vetpar.2009.11.003

Lebbad, M., Peterson, L., Karlsson, L., Botero-Kleiven, S., Andersson, J. O., Svenungsson, B., et al. (2011). Multilocus genotyping of human *Giardia* isolates suggests limited zoonotic transmission and association between assemblage B and flatulence in children. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 5:e1262. doi: 10.1371/journal.pntd.0001262

Leitsch, D. (2015). Drug resistance in the microaerophilic parasite *Giardia lamblia*. *Curr. Trop. Med. Rep.* 2, 128–135. doi: 10.1007/s40475-015-0051-1

Lemée, V., Zaharia, I., Nèvez, G., Rabodonirina, M., Brasseur, P., Ballet, J. J., et al. (2000). Metronidazole and albendazole susceptibility of 11 clinical isolates of *Giardia duodenalis* from France. *J. Antimicrob. Chemother.* 46, 819–821. doi: 10.1093/jac/46.5.819

Martin, D. P., Murrell, B., Golden, M., Khoosal, A., and Mihre, B. (2015). RDP4: detection and analysis of recombination patterns in virus genomes. *Virus Evol.* 1:vev003.

March, K., Haney, K., Robertson, L. J., Strand, E. A., and Langland, N. (2008). Treatment-ladder and genetic characterisation of parasites in refractory giardiasis after an outbreak in Norway. *J. Infect.* 56, 268–273. doi: 10.1016/j.jinf.2008.01.013

- Nabarro, L. E., Lever, R. A., Armstrong, M., and Chiodini, P. L. (2015). Increased incidence of nitroimidazole-refractory giardiasis at the hospital for tropical diseases, London, 2008–2013. *Clin. Microbiol. Infect.* 21, 791–796. doi: 10.1016/j.cmi.2015.04.019
- Nash, T. E., Ohl, C. A., Thomas, E., Subramanian, G., Keiser, P., and Moore, T. A. (2001). Treatment of patients with refractory giardiasis. *Clin. Infect. Dis.* 33, 22–28. doi: 10.1086/320886
- Otto, T. D., Catanho, M., Degrave, W., and de Miranda, A. B. (2007). The PDITIS bioinformatics platform: from sequence to function. *Rev. Electron. Cienc. Inf. Inov. Saude* 1, 286–294.
- Ryan, U., and Cacciò, S. M. (2015). Zoonotic potential of *Giardia*. *Int. J. Parasitol.* 43, 943–956.
- Saitou, N., and Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 4, 406–425.
- Scalia, L. A., Faria, N. M., Soares, R. M., Limongi, J. E., da Cunha, M. J., Pena, I. F., et al. (2016). Multilocus genotyping of *Giardia duodenalis* in Brazilian children. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 110, 343–349.
- Tejman-Yarden, N., and Eckmann, L. (2011). New approaches to the treatment of giardiasis. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 24, 451–456. doi: 10.1097/qco.0b013e328354ad401
- Thompson, J. D., Higgins, D. G., and Gibson, T. J. (1994). CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.* 22, 4673–4680. doi: 10.1093/nar/22.22.4673
- Torgerson, P. R., Devleeschauwer, B., Praet, N., Speybroeck, N., Willingham, A. L., Kasuga, F., et al. (2015). World Health Organization estimates of the global and regional disease burden of 11 foodborne parasitic diseases, 2010: a data synthesis. *PLoS Med.* 12:e1001920. doi: 10.1371/journal.pmed.1001920
- Volosto, A. C., Costa-Macêdo, L. M., Haddad, F. S., Brandão, A., Peralta, J. M., and Fernandes, O. (2007). Genotyping of *Giardia duodenalis* from human and animal samples from Brazil using beta-giardin gene: a phylogenetic analysis. *Acta Trop.* 102, 10–19. doi: 10.1016/j.actatropica.2007.02.010
- Xu, F., Jerlström-Hultqvist, J., and Andersson, J. O. (2012). Genome-wide analyses of recombination suggest that *Giardia intestinalis* assemblages represent different species. *Mol. Biol. Evol.* 29, 2895–2898. doi: 10.1093/molbev/mst007
- Zahedi, A., Field, D., and Ryan, U. (2017). Molecular typing of *Giardia duodenalis* in humans in Queensland – first report of assemblage E. *Parasitology* 144, 1154–1161. doi: 10.1017/S0051182017000439

Conflict of Interest: The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Copyright © 2020 Farrinatti, Lopes-Oliveira, Cascais-Figueroa, Azeiteiro-Teixeira, Verissimo, Bello and Da-Cruz. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

1 **Apêndice 6. Artigo submetido**

2 **1 Journal of Tropical Medicine**

3 **Water management and intestinal parasitism in a periurban community in Rio de**
4 **Janeiro state, Brazil**

5

6 Phelipe Austriaco-Teixeira^{1*}, Maria Fantinatti¹, Luiz Antonio Pimentel Lopes-Oliveira¹,
7 Monique Pinto Gonçalves¹, Denise dos Santos Leal¹, Isabella Stephanovich¹, Antonio José da
8 Silva Gonçalves¹, Erika Veríssimo², Alda Maria Da-Cruz¹², Filipe Anibal Carvalho-Costa^{3*}

9

10 1. Laboratório Interdisciplinar de Pesquisas Médicas, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação
11 Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

12 2. Disciplina de Parasitologia, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do
13 Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

14 3. Laboratório de Epidemiologia e Sistemática Molecular, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação
15 Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

16

17

18 *Corresponding author: Phelipe Austriaco-Teixeira; ph-austriaco@hotmail.com

19 Filipe Anibal Carvalho-Costa; carvalhocosta70@hotmail.com

20

21

22 **2 Abstract**

23

24 Intestinal parasites are neglected diseases caused by helminths and protozoa with high
25 prevalence in developing countries and are conditioned to the socio-environmental
26 characteristics of the communities. The present study aims to characterize the frequency and
27 factors associated with intestinal parasitism in periurban community in Rio de Janeiro State,
28 Brazil. A community-based cross-sectional study was carried out from July 2018 to June
29 2019 in a community in the state in Rio de Janeiro, and a stool sample was collected from
30 each participant (n = 462) for parasitological evaluation, and a questionnaire was applied to
31 obtain sociodemographic information (n = 341). Intestinal protozoa were found in 75 (16.2%)
32 samples. *Giardiasis* was significantly more frequent in individuals who consumed artesian
33 well water without filtering when compared to those who consumed filtered artesian well
34 water. [21/65 (32.3%) vs. 3/81 (3.7%)]; prevalence ratio [PR]= 8.7 (2.72-27.96; p<0.001).
35 Soil-helminth were detected in 41 (8.9%) individuals. *A. lumbricoides* had a prevalence of
36 5.6% (26/462) and *T. trichiura* of 2.8% (13/462), It was observed that the use of well water
37 without filtration was associated with higher positivity rates for *A. lumbricoides*. The results
38 of this study show that intestinal parasitic infections are still present in peri-urban areas in the
39 state of Rio de Janeiro, and their distribution is influenced by micro-regional factors, with
40 emphasis on strategies for managing drinking water by residents. These results point to the
41 need to create and implement effective public sanitation policies, mainly for water supply in
42 places where there is social and health vulnerability, that is, where "neglected people" live.

43

44 3 Introduction

45 Intestinal parasitic diseases are caused by helminths and protozoa resulting in significant
46 morbidity. High prevalence rates are observed in developing countries due to the low
47 sanitation background [1].

48 This problem can be aggravated in areas that are socially vulnerable, such as in slums or
49 impoverished Brazilian communities as a consequence of the difficulty for socio-
50 environmental improvements and health actions [2].

51 In these regions, infections by intestinal parasites are a relevant public health problem and
52 *Giardia intestinalis* is the one of the most frequent intestinal parasites. The infection by
53 *Giardia* can be asymptomatic or cause gastrointestinal discomfort, including nausea,
54 vomiting, malaise, flatulence, colic, diarrhea, steatorrhea and weight loss [1]. Giardiasis may
55 interfere with the development of children and cause moderate morbidity in individuals living
56 with infection-treatment-reinfection, as they have no prospect of improving sanitation
57 conditions [3-5].

58 Infection with *Entamoeba histolytica* can be asymptomatic, but when amoebic dysentery
59 occurs, there are cramps, abdominal pain, watery or bloody diarrhea and weight loss, extra-
60 intestinal cases can occur leading to liver abscess. There are an estimated more than 50
61 million people infected worldwide by this protozoan [6,7]. Like giardiasis, *E. histolytica*
62 infection can be a hidden and prevalent condition in communities with poor sanitation and
63 social vulnerability [8].

64 Despite being commensal parasites, *Entamoeba coli* and *Endolimax nana*, they may indicate
65 a scenario of transmission of fecal-oral pathogens and other pathogenic protozoa, being used
66 as markers of health quality in a region [9].

67 Geohelminthiasis is considered the most widespread neglected tropical disease, accounting
68 for approximately one and a half billion infections worldwide. It is estimated that 438.9
69 million people are infected with hookworm, 819.0 million with *Ascaris lumbricoides* and
70 464.6 million with *Trichuris trichiura* [10-12].

71 Helminth infections transmitted by the soil are associated with the health and poverty
72 conditions of individuals, interfering negatively in the nutritional status of children and
73 leading to impairments in physical, intellectual and cognitive development. These diseases
74 are related to the loss of muscle mass and fat, dysentery, and in severe cases there may be
75 intestinal obstruction (*A. lumbricoides*), rectal prolapse (*T. trichiura*) and severe anemia
76 (hookworms) [8,13,14].

77 Current strategies for the control of intestinal parasites are focused on reducing the frequency
78 of helminthiasis with preventive chemotherapy through the mass administration of
79 medications. However, preventive chemotherapy represents a powerful, but short-term,
80 control strategy. Long-term solutions require improvements in water, sanitation and hygiene
81 [15].

82 Water scarcity and its management in poor communities is a global problem and interferes
83 with the increase in the prevalence rates of intestinal parasites [16]. In Brazil, especially in
84 peri-urban communities, the difficulty in obtaining water causes individuals to seek

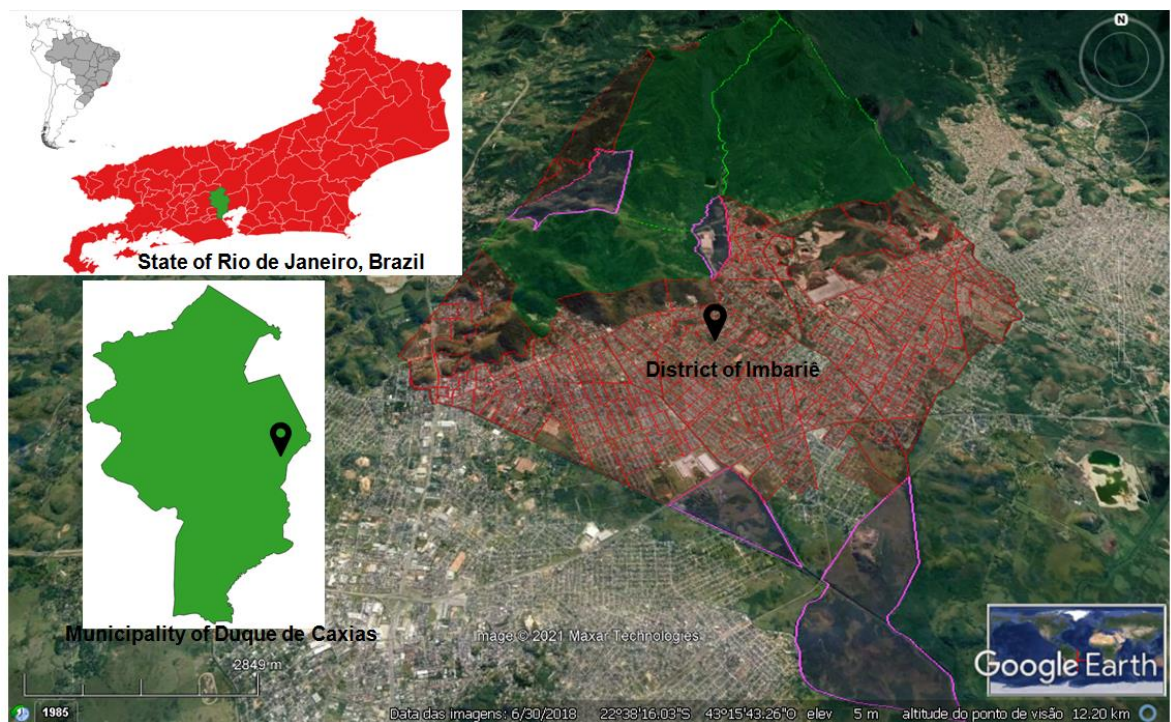
85 alternative sources, such as the creation of artesian wells, and without proper management
86 end up ingesting inadequate water [17,18].

87 The present study aims to characterize the frequency and factors associated with intestinal
88 parasitism in periurban community in Rio de Janeiro state, Brazil.

89

90 **4 Materials and Methods**

91 *Study location.* With a cross-sectional design, the study was carried out in a community,
92 district Imbariê, in the municipality of Duque de Caxias, state of Rio de Janeiro, Brazil. The
93 locality, although also classified as an urbanized area, has more than a third defined as a rural
94 area, including rural agglomeration, configuring a transition situation in terms of urbanization
95 (Figure 1). The region has social and health vulnerability, with low-income individuals
96 predominating. In 2010, the population of the neighbourhood was estimated at 34,157
97 inhabitants. Approximately 93.7% of the residents live in a semi-adequate condition of
98 sanitation, with 91.9% of the households having a well or spring as a source of water, and
99 just over 73% supplied with a general sewage or storm water network. An area assisted by
100 the Family Health Strategy (FHS) unit was reviewed for study. This area has a population of
101 846 families registered for service, with approximately 3,000 people served.



102

103 **Figure 1.** Location of the study area in the municipality of Duque de Caxias, Rio de
104 Janeiro, Brazil.

105

106 *Strategy for sampling and recruitment.* All families served by the FHS in the specific area
107 were included in the study. A fecal return rate of 30% was assessed, with the inclusion of 462

108 residents. A stool sample was collected from the participant's cover from July 2018 to June
109 2019. The households were eliminated in the presence of at least one member of the FHS,
110 with an explanation of the project, an invitation to participate in the study and distribution of
111 the collectors for collection of feces. Socioeconomic information was corrected by means of
112 a semi-structured questionnaire at the time of sample delivery. Out of 462 participants who
113 delivered as accredited, 341 agreed to answer the questionnaire.

114 *Parasitological procedures.* The samples were placed in collectors and maintained
115 refrigerated at 4°C. The material was submitted to parasitological examination of feces by the
116 methods of Ritchie and Kato-Katz within 12 hours.

117 *Statistical analysis of the data.* Data were presented descriptively, and statistical analyses
118 were performed with Epi Info 2000® (CDC, Atlanta, Georgia, USA) as prevalence rates of
119 different parasite species in distinct sociodemographic categories. Prevalence ratios and
120 respective 95% CIs were calculated. The statistical significance of the associations was
121 assessed by Fisher's exact test, with a significance threshold of $p < 0.05$.

122

123 *Ethical Approval.* The study was previously approved by the Research Ethics Committee of
124 Instituto Oswaldo Cruz/Fiocruz, license number CAAE: 90779017.7.0000.5248.

125

126 **5 Results**

127 Among the individuals invited to participate in the study, 462 subjects were included, whose
128 fecal samples were analyzed. Table 1 e 2 shows the frequency of individuals infected with
129 intestinal parasites, by sex, age group and demographic conditions.

130 Among the study participants, 274 were female and 188 male. Most participants were
131 between 19 and 60 years old ($n = 258$). In 23.4% (108/462) of the individuals, some intestinal
132 parasites was detected. Single parasitism was found in 84 samples, double parasitism in 19
133 and multiple parasitism in five. *G. intestinalis* was the most prevalent parasite (38/462; 8.2%)
134 (Table 1).

135 In the community studied, families have different strategies for obtaining drinking water.
136 Thus, 42.8% (146/341) have well water as source, 25.5% (87/341) water from gallons and
137 31.7% water from the supply company (108/341).

138 Giardiasis had a frequency of 8.2% (38/462) and was significantly more frequent in
139 individuals who consumed water from an artesian well without filtration. In this subgroup,
140 positivity rate reached 33% (Table 1). Geohelminths were detected in 41 (8.9%) individuals.
141 *A. lumbricoides* had a prevalence of 5.6% (26/462) and *T. trichiura* of 2.8% (13/462) (Table
142 2). Concerning ascariasis, it was significantly more frequent among subjects that drink water
143 directly obtained from wells, with no filtration. In this subgroup, prevalence ratio reached
144 18.5%.

Table 1. Detection frequency of intestinal protozoa and factors associated in individuals treated by a Basic Health Unit, in the municipality of Duque de Caxias, Rio de Janeiro, Brazil (2018-2019)

Gender	Any protozoa			<i>Giardia intestinalis</i>			<i>Entamoeba histolytica/ E.dispar</i>			<i>Entamoeba coli</i>			<i>Endolimax nana</i>		
	Positivity	PR*	p-value	Positivity	PR*	p-value	Positivity	RP*	p-value	Positivity	PR*	p-value	Positivity	PR*	p-value
Male	30/188 (16.0%)	1		18/188 (9.6%)	1.31 (0.71-2.41)	0.393	6/188 (3.2%)	1		4/188 (2.1%)	1		7/188 (3.7%)	1	
Female	45/274 (16.4%)	1.02 (0.67-157)	1.00	20/274 (7.3%)	1		10/274 (3.6%)	1.14 (0.42-3.09)	1.00	12/274 (4.4%)	2.05 (0.67-6.28)	0.300	11/274 (4.0%)	1.07 (0.42-2.73)	1.00
Age group (years)															
0-4	5/40 (12.5%)	2.89 (0.31-2.52)	1.00	3/40 (7.5%)	2.13 (0.37-12.2)	0.400	1/40 (2.5%)	1.42 (0.09-22.11)	1.00	0/40 (0.0%)	undefined	0.140	1/40 (2.5%)	1.42 (0.09-22.11)	1.00
5-14	19/91 (20.9%)	1.48 (0.69-3.17)	0.382	11/91 (12.1%)	3.44 (0.79-4.98)	0.082	3/91 (3.3%)	1.87 (0.20-17.63)	1.00	3/91 (3.3%)	0.46 (0.10-2.02)	0.429	5/91 (5.5%)	3.13 (0.37-26.12)	0.406
15-18	3/26 (11.5%)	0.82 (0.23-2.85)	1.00	2/26 (7.7%)	2.19(0.32-14.72)	0.586	2/26 (7.7%)	4.38 (0.41-46.21)	0.229	1/126 (3.8%)	0.54 (0.06-4.66)	1.00	1/26 (3.8%)	2.19 (0.14-33.70)	0.531
19-60	40/248 (16.1%)	1.14 (0.56-2.31)	0.840	20/248 (8.1%)	2.29 (0.55-9.55)	0.391	9/248 (3.6%)	2.06 (0.26-16.00)	0.694	2/248 (3.2%)	0.45 (0.14-1.47)	0.247	10/248 (4.0%)	2.29 (0.30-17.59)	0.696
>60	8/57 (14%)	1		2/57 (3.5%)	1		1/57 (1.8%)	1		4/57 (7.0%)	1		1/57 (1.8%)	1	
Study years															
Basic	51/248 (20.6%)	1		31/248 (12.5%)	1		11/248 (4.4%)	1		9/248 (3.6%)	1		9/248 (3.6%)	1	
High school - graduate	14/93 (15.1%)	0.73 (0.42-1.25)	0.281	7/93 (7.5%)	0.60 (0.27-1.31)	0.247	3/93 (3.2%)	0.72 (0.20-2.54)	0.765	4/93 (4.3%)	1.85 (0.37-3.75)	0.756	4/93 (4.3%)	1.85 (0.37-3.75)	0.756
Poverty**															
Yes	23/128 (18.0%)	1		14/128 (10.9%)	1		3/128 (2.3%)	1		3/128 (2.3%)	1		7/128 (5.5%)	1	
No	42/213 (19.7%)	1.09 (0.69-1.73)	0.776	24/213 (11.3%)	1.03 (0.55-1.91)	1.000	11/213 (5.2%)	2.20 (0.62-7.74)	0.265	10/213 (4.7%)	2.00 (0.56-7.14)	0.384	6/213 (2.8%)	0.51 (0.17-1.49)	0.248
Number of residents															
<4	50/246 (20.3%)	1.28 (0.76-2.17)	0.361	28/246 (11.4%)	1.08 (0.54-2.13)	1.00	10/246 (4.1%)	0.96 (0.31-3.00)	1.00	12/246 (4.9%)	4.63 (0.61-35.15)	0.121	12/246 (4.9%)	4.63 (0.61-35.15)	0.121
≥5	15/95 (15.8%)	1		10/95 (10.5%)	1		4/95 (4.4%)	1		1/95 (1.0%)	1		1/95 (1.0%)	1	
Home floor															
Coated	29/197 (14.7%)	1		17/197 (8.6%)	1		7/197 (3.6%)	1		7/197 (3.6%)	1		2/197(1.0%)	1	
Uncoated	36/144 (25.0%)	1.69 (1.09-2.63)	0.018	21/144 (14.6%)	1.69 (0.92-3.08)	0.115	7/144 (4.9%)	1.36 (0.49-3.81)	0.588	6/144 (4.2%)	1.17 (0.40-3.41)	0.781	11/144 (7.6%)	7.52 (1.69-33.42)	0.002
Water to drink															
artesian well	36/146 (24.7%)	1.56 (0.93-2.63)	0.088	24/146 (16.4%)	2.95 (1.25-6.98)	0.009	3/146 (2.1%)	0.44 (0.10-1.81)	0.290	9/146 (6.2%)	2.21 (0.61-8.00)	0.246	9/146 (6.2%)	2.21 (0.61-8.00)	0.246
gallon of water	12/87 (13.8%)	0.87 (0.44-1.73)	0.840	8/87 (9.2%)	1.65 (0.57-4.59)	0.406	6/87 (6.9%)	1.48 (0.47-4.71)	0.544	1/87 (1.1%)	0.41 (0.04-3.90)	0.629	1/87 (1.1%)	0.41 (0.04-3.90)	0.629
supply company	17/108 (15.7%)	1		6/108 (5.6%)	1		5/108 (4.6%)	1		3/108 (2.8%)	1		3/108 (2.8%)	1	
Fate of feces															
Ditch	3/15 (20%)	1.00 (0.31-3.13)	1.000	2/15 (13.3%)	3.66 (0.56-23.9)	0.198	0/15 (0.0%)	undefined	1.00	1/15 (6.7%)	0.91 (0.11-7.60)	1.00	0/15 (0.0%)	undefined	0.328
Septic tank	11/55 (20%)	1		2/55 (3.6%)	1		1/55 (1.8%)	1		4/55 (7.3%)	1		6/55 (10.9%)	1	
Sewage	51/27 (18.8%)	0.94 (0.52-1.68)	0.851	34/271 (12.5%)	3.45 (0.85-13.94)	0.059	13/271 (4.8%)	2.63 (0.35-19.75)	0.478	8/271 (3.0%)	0.40 (0.12-1.30)	0.125	7/271 (2.6%)	0.23 (0.08-0.67)	0.011
Animal at home															
No	12/74 (16.2%)	1		7/74 (9.5%)	1		3/74 (4.1%)	1		1/74 (1.4%)	1		4/74 (5.4%)	1	
Yes	53/267 (19.9%)	1.22 (0.69-2.16)	0.615	31/267 (11.6%)	1.22 (0.56-2.67)		11/267 (4.1%)	1.01 (0.29-3.54)	1.00	12/267 (4.5%)	3.32 (0.43-25.16)	0.312	9/267 (3.4%)	0.62 (0.19-1.96)	0.490
Use of antiparasitic drugs															
Yes	6/48 (12.5%)	1		4/48 (8.3%)	1		2/48 (4.2%)	1		2/48 (4.2%)	1		1/48 (2.1%)	1	
No	59/293 (20.1%)	1.61 (0.73-3.52)	0.240	34/293 (11.6%)	1.39 (0.51-3.74)	0.626	12/293 (4.1%)	0.98 (0.22-4.25)	1.00	11/293 (3.8%)	90 (0.20-3.94)	1.00	12/293 (4.1%)	1.96 (0.26-14.77)	1.00
Water management															
artesian well e filters	10/81 (12.3%)	1		3/81 (3.7%)	1		0/81 (0.0%)	1		5/81 (6.2%)	1		6/81 (7.4%)	1	
artesian well e not filter	26/65 (40.0%)	3.24 (1.68-6.22)	<0.001	21/65 (32.3%)	8.7 (2.72-27.96)	<0.001	3/65 (4.6%)	undefined	0.085	4/65 (6.2%)	0.99 (0.27-3.56)	1.00	3/65 (4.6%)	0.623 (0.16-2.39)	0.731
gallon of water supply company e filters	12/87 (13.8%)	1.11 (0.51-2.44)	0.822	8/87 (9.2%)	2.48 (0.68-9.03)	0.214	6/87 (6.9%)	undefined	0.029	1/87 (1.1%)	0.18 (0.02-1.56)	0.107	1/87 (1.1%)	0.15 (0.01-1.26)	0.056
supply company e not filter	4/25 (16.0%)	1.29 (0.44-3.77)	0.736	1/25 (4.0%)	1.08 (0.11-9.92)	1.000	1/25 (4.0%)	undefined	0.235	0/25 (0.0%)	undefined	0.589	2/25 (8.0%)	1.08 (0.23-5.01)	1.00
supply company e not filter	13/83 (15.7%)	1.26 (0.59-2.72)	0.654	5/83 (6.0%)	1.62 (0.40-6.58)	0.719	4/83 (4.8%)	undefined	0.120	3/83 (3.6%)	0.585 (0.14-2.37)	0.492	1/83 (1.2%)	0.162 (0.02-1.32)	0.062

PR=Prevalence ratio. *95% CI. ** MPCHI < 249.00 BRL per capita

Table 2. Detection frequency of intestinal helminthes and factors associated in individuals treated by a Basic Health Unit, in the municipality of Duque de Caxias, Rio de Janeiro, Brazil (2018-2019)

Gender	Any helminth			<i>Ascaris lumbricoides</i>			<i>Trichuris trichiura</i>			Hookworms		
	Positivity	PR*	p-value	Positivity	PR*	p-value	Positivity	PR*	p-value	Positivity	PR*	p-value
Male	17/188 (9.0%)	1		9/188 (4.8%)	1		9/188 (4.8%)	1		2/188 (1.1%)	1	
Female	24/274 (8.8%)	0.96 (0.53-1.75)	1.00	17/274 (6.2%)	1.29 (0.59-2.84)	0.546	4/274 (1.5%)	0.30 (0.09-0.97)	0.044	3/274 (1.1%)	1.02 (0.17-6.2)	1.00
Age group (years)												
0-4	2/40 (5.0%)	1		2/40 (5.0%)	1		0/40 (0.0%)	indefined	0.151	0/40 (0.0%)	indefined	1.00
5-14	12/91 (13.2%)	2.63 (0.61-11.24)	0.225	5/91 (5.5%)	1.09 (0.22-5.42)	1.00	8/91 (8.8%)	1.14 (0.25-5.05)	1.00	0/91 (0.0%)	Indefined	0.577
15-18	3/26 (11.5%)	2.30 (0.41-12.88)	0.374	1/26 (3.8%)	0.76 (0.07-8.05)	1.00	2/26 (7.7%)	1		0/26 (0.0%)	indefined	1.00
19-60	19/248 (7.7%)	1.53 (0.37-6.32)	0.749	15/248 (6.0%)	1.20 (0.28-5.09)	1.00	2/248 (0.8%)	0.10 (0.01-0.713)	0.046	4/248 (1.6%)	1	
>60	5/57 (8.8%)	1.75 (0.35-8.59)	0.696	3/57 (5.3%)	1.05 (0.18-6.01)	1.00	1/57 (1.8%)	0.22 (0.02-2.40)	0.229	1/57 (1.8%)	1.08 (0.12-9.54)	1.00
Study years												
Basic	23/248 (9.3%)	1		13/248 (5.2%)	1		10/248 (4.0%)	1		1/248 (0.4%)	1	
High school -graduate	15/93 (16.1%)	1.73 (0.94-3.18)	0.083	13/93 (14.0%)	2.66 (1.28-5.53)	0.010	1/93 (1.1%)	0.26 (0.03-2.05)	0.300	3/93 (3.2%)	8.00 (0.84-75.94)	0.063
Poverty**												
Yes	15/128 (11.7%)	1		6/128 (4.7%)	1		7/128 (5.5%)	1		2/128 (1.6%)	1	
No	23/213 (10.8%)	0.92 (0.49-1.70)	0.859	20/213 (9.4%)	2.00 (0.82-4.800)	0.141	4/213 (1.9%)	0.34 (0.10-1.15)	0.109	2/213 (0.9%)	0.600 (0.08-4.21)	0.632
Number of residents												
<4	32/246 (13.0%)	1		23/246 (9.3%)	1		8/246 (3.2%)	1		4/246 (1.6%)	1	
≥5	6/95 (6.3%)	0.48 (0.209-1.12)	0.086	3/95 (3.1%)	0.33 (0.10-1.09)	0.067	3/95 (3.1%)	0.97 (0.26-3.58)	1.00	0/95 (0.0%)	indefined	0.579
Home floor												
coated	16/197 (8.1%)	1		15/197 (7.6%)	1		2/197 (1.0%)	1		2/197 (1.0%)	1	
uncoated	22/144 (15.3%)	1.88 (1.02-3.45)	0.054	11/144 (7.6%)	1.00 (0.47-2.11)	1.00	9/144 (6.2%)	6.15 (1.35-28.06)	0.010	2/144 (1.4%)	1.36 (0.19-9.59)	1.00
Water to drink												
artesian well	23/146 (15.8%)	1		13/146 (8.9%)	1		10/146 (6.8%)	1		2/146 (1.4%)	1	
gallon of water	7/87 (8.0%)	0.51 (0.22-1.14)	0.107	6/87 (6.9%)	0.77 (0.30-1.96)	0.805	0/87 (0.0%)	indefined	0.014	2/87 (2.3%)	1.67 (0.24-11.70)	0.630
supply company	8/108 (7.4%)	0.47 (0.21-1.01)	0.052	7/108 (6.5%)	0.72 (0.30-1.76)	0.638	1/108 (0.9%)	0.135 (0.01-1.04)	0.026	0/108 (0.0%)	Indefined	0.509
Fate of feces												
Ditch	2/15 (13.3%)	1.29 (0.33-4.91)	0.662	1/15 (6.7%)	0.78 (0.11-5.43)	1.00	1/15 (6.7%)	4.51 (0.53-37.96)	0.237	0/15 (0.0%)	Indefined	1.00
Septic tank	8/55 (14.5%)	1.40 (0.67-292)	0.350	2/55 (3.6%)	0.42 (0.10-1.76)	0.276	6/55 (10.9%)	7.39 (2.15-25.32)	0.002	0/55 (0.0%)	Indefined	1.00
Sewage	28/271 (10.3%)	1		23/271 (8.5%)	1		4/271 (1.5%)	1		4/271 (1.5%)	1	
Animal at home												
No	34/267 (2.7%)	2.35 (0.86-6.42)	0.094	22/267 (8.2%)	1.52 (0.54-428)	0.620	11/267 (4.1%)	Indefined	0.130	4/267 (1.5%)	Indefined	0.580
Yes	4/74 (5.4%)	1		4/74 (5.4%)	1		0/74 (0.0%)	1		0/74 (0.0%)	1	
Use of antiparasitic drugs												
Yes	2/48 (4.2%)	1		2/48 (4.2%)	1		0/48 (0.0%)	1		0/48 (0.0%)	1	
No	36/293 (12.3%)	2.94 (0.73-11.84)	0.135	24/293 (8.2%)	1.96 (0.58-8.05)	0.555	11/293 (3.7%)	indefined	0.372	4/293 (1.4%)	indefined	1.00
Water management												
artesian well e filters	9/81 (11.1%)	0.51 (0.23-1.11)	0.110	1/81 (1.2%)	0.06 (0.008-0.50)	<0.001	7/81 (8.6%)	1.87 (0.50-6.95)	0.512	1/81 (1.2%)	0.802 (0.05-1258)	1.00
artesian well e not filter	14/65 (21.5%)	1		12/65 (18.5%)	1		3/65 (4.6%)	1		1/65 (1.5%)	1	
gallon of water	7/87 (8.0%)	0.37 (0.15-0.872)	0.030	6/87 (6.9%)	0.37 (0.148-0.942)	0.041	0/87 (0.0%)	Indefined	0.076	2/87 (2.3%)	1.49 (0.13-16.12)	1.00
supply company e filters	2/25 (8.0%)	0.37 (0.09-1.51)	0.217	2/25 (8.0%)	0.43 (0.104-1.80)	0.333	0/25 (0.0%)	Indefined	0.557	0/25 (0.0%)	indefined	1.00
supply company e not filter	6/83 (7.2%)	0.33 (0.13-0.285)	0.015	5/83 (6.0%)	0.32 (0.121-0.879)	0.035	1/83 (1.2%)	0.26 (0.02-2.45)	0.319	0/83 (0.0%)	indefined	0.439

PR=Prevalence ratio. *95% CI. ** MPCHI < 249.00 BRL per capita.

6 Discussion

The general frequency (23.4%) of parasites found in the community is high compared to other studies conducted in Brazil [19-21], but was below that found in other studies conducted in communities in the state of Rio de Janeiro [2,22].

Intestinal protozoa were more frequent than helminths, the result that may be due to the use of mass anthelmintics as a prophylactic measure in the fight against intestinal parasites. Although prophylactic treatment has an impact on STH transmission, this strategy must be accompanied by sanitary improvements and water quality management, if there will be no maintenance of waterborne pathogens and recurrent reinfection [15].

This study found no correlation of positivity for protozoa with income compared to another study conducted in Rio de Janeiro [23]. However, it was observed that the use of well water without filtration was associated with higher rates of positivity for giardiasis and ascariasis. A study carried out in another Brazilian state also points to a correlation between the lack of treatment in the water used for consumption and the increase in the prevalence of intestinal parasites, as well as showing that water management increases the rate of polyparasites [17].

Families in the studied area have different strategies for obtaining drinking water. Although the state water company provides piped water in the neighbourhood, this supply is not constant. This makes some families prefer to drill wells to obtain water, being independent from the state. It is interesting to note that families with the most financial resources are those who have the most access to drilling a well. This is done so that the household is independent of the water supply by the governmental company, which sometimes fails. Paradoxically, this offers greater vulnerability of these families to infection by intestinal parasites, since private wells that are poorly maintained are relevant for the transmission of intestinal parasites, especially those with water transmission such as *G. intestinalis* [24].

In this way, the household characteristics of water management are determining factors of intestinal parasitism in the studied community and if there was no need to use well water, the rates of positivity are lower. This data reinforces the need for effective public policies and programs to expand water supply in Brazil [18].

The only strategy for coping with intestinal parasites in Brazil is the mass treatment of the population, an action that does not include protozoa [25]. This strategy needs to be improved. So, not always a pill, can be the solution to a problem that is beyond "having or not having the parasite" at any given time.

Studies on epidemiology and risk factors associated with these changes can assist in the characterization of the transmission profile of intestinal parasites in different sociodemographic contexts, being important for improving strategies for coping with intestinal parasites.

7 Conclusions

Intestinal parasitic infections are still present in peri-urban areas in the state of Rio de Janeiro, and their distribution is influenced by micro-regional factors, with emphasis on strategies for managing drinking water by residents. These results point to the need to create and implement effective public sanitation policies, mainly in water supply in places where there is social and health vulnerability, that is, where "neglected people" live.

8 Data Availability

Data available on request due to privacy/ethical restrictions. The data that support the findings of this study are available on request from the corresponding author, Austriaco-Teixeira P. The data are not publicly available because they contain information that could compromise the privacy of research participants. We are expecting your sincere opinion of the manuscript. We will be very pleased to see it accepted to publish in this journal.

9 Conflicts of Interest

The authors have no personal conflicts of interest.

10 Funding Statement

This work was supported by CNPq Universal Program (Grant 435015/2018-4), and Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ—Brazilian Ministério da Saúde (internal funds). P.A-T. was supported by a fellowship from CNPq. M.F. was supported by a fellowship from CNPq (PDJ), INOVA FIOCRUZ Program and FAPERJ Nota 10. L.A.P.L-O. was supported by a fellowship from IOC/Fiocruz. M.P.G. was supported by a fellowship from CNPq (PIBIC). I.S.F. was supported by a fellowship from FAPERJ (IC). A.M.D.-C. has a research fellowship from CNPq and FAPERJ (CNE).

11 Acknowledgments

We would like to thank the administrative staff and Agents of Primary Health Care in Imbariê for their support in the field activities and the Department of Health of Duque de Caxias.

12 Legends

Table 1. Detection frequency of intestinal protozoa and factors associated in individuals treated by a Basic Health Unit, in the municipality of Duque de Caxias, Rio de Janeiro, Brazil (2018-2019)

Table 2. Detection frequency of intestinal helminthes and factors associated in individuals treated by a Basic Health Unit, in the municipality of Duque de Caxias, Rio de Janeiro, Brazil (2018-2019)

Figure 1. Location of the study area in the municipality of Duque de Caxias, Rio de Janeiro, Brazil.

13 References



- [1] C. J. Kucik, G. L. Martin, B. V. Sortor, "Common intestinal parasites," *American Family Physician*, vol. 69, pp. 1161-1168, 2004.
- [2] C. F. Ignacio, M. E. C. D. Silva, N. B. Handam et al., "Socioenvironmental conditions and intestinal parasitic infections in Brazilian urban slums: a cross-sectional study," *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, vol. 59, 2017.
- [3] C. H. Coelho, M. Durigan, D. A. G. Leal, A. B. Schneider, R. M. B Franco, S. M. Singer, "Giardiasis as a neglected disease in Brazil: Systematic review of 20 years of publications," *PLOS Neglected Tropical Disease*, vol. 11, e0006005, 2017.
- [4] T. Cascais-Figueiredo; P. Austriaco-Teixeira; M. Fantinatti; M. L. Silva-Freitas, J. R. Santos-Oliveira, C. H. Coelho, S. M. Singer, A. M. Da-Cruz, "Giardiasis Altera Intestinal Fatty Acid Binding Protein (I-FABP) and Plasma Cytokines Levels in Children in Brazil," *Pathogens*, vol. 9, no. 1, 2019.
- [5] M. Fantinatti, L. A. L. Lopes-Oliveira, T. Cascais-Figueredo, P. Austriaco-Teixeira, E. Verissimo, A. R. Bello, A. M. Da-Cruz AM, "Recirculation of *Giardia lamblia* Assemblage A After Metronidazole Treatment in an Area With Assemblages A, B, and E Sympatric Circulation," *Frontiers in Microbiology*, vol. 11, 2020.
- [6] R. Haque, C. D. Huston, M. Hughes, E. Houpt, A. W. Petri, "Amebiasis," *The New England Journal of Medicine*, vol. 348, no. 16, pp. 1565-1573, 2003.
- [7] T. E. Bercu, W. A. Petri, J. W. Behm, "Amebic colitis: new insights into pathogenesis and treatment," *Curr Gastroenterol Rep*, vol. 9, no. 5, pp.429-433, 2007.
- [8] D. A. Calegar, P. A. A. Bacelar, B. B. C. Evangelista, K. J. L. Monteiro, J. P. Dos Santos, M. M. Almeida, M. N. Bóia, F. A. Carvalho-Costa, "Socioenvironmental Factors Influencing Distribution and Intensity of Soil-Transmitted Helminthiasis in the Brazilian Amazon: Challenges for the 2030 Agenda," *J Trop Med*, 6610181, 2021.

- [9] C. M. A. Uchôa, M. C. de Albuquerque, F. M. de Carvalho, A. O. Falcão, P. da Silva, O. M. P. Bastos, "Parasitismo intestinal em crianças e funcionários de creches comunitárias da cidade de Niterói-RJ, Brasil," *Journal of Tropical Pathology*, vol. 38, no. 4, pp. 267-278, 2009.
- [10] R. L. Pullan, J. L. Smith, R. Jasrasaria, et al, "Global numbers of infection and disease burden of soil transmitted helminth infections in 2010", *Parasites Vectors*, vol.7, no. 37, 2014.
- [11] N. R. De Silva, S. Brooker, P. J. Hotez, A. Montresor, D. Engels, L. Savioli, "Soil-transmitted helminth infections: updating the global picture," *Trends Parasitol*, vol. 19, pp. 547-551, 2003.
- [12] M. S. Palmeirim, E. Hürlimann, S. Knopp, B. Speich, V. Jr Belizario, S. A. Joseph, M. Vaillant, P. Oliaro, J. Keiser, "Efficacy and safety of co-administered ivermectin plus albendazole for treating soil-transmitted helminths: A systematic review, meta-analysis and individual patient data analysis, " *PLoS Negl Trop Dis*, vol. 12, no.4, e0006458, 2018.
- [13] M. M. Almeida, K. Monteiro, P. Bacelar, J. Santos, S. Freitas, B. Evangelista, D. N. Leal, D. Silva, A. B. Cardoso, E. Nascimento, A. Moraes Neto, F. A. Carvalho-Costa, "Interactions between malnutrition, soil-transmitted helminthiasis and poverty among children living in periurban communities in Maranhao State, Northeastern Brazil," *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, vol. 62, e73, 2020.
- [14] J. Bethony, S. Brooker, M. Albonico, S. M. Geiger, A. Loukas, D. Diemert, P. J. Hotez, "Soil-transmitted helminth infections: ascariasis, trichuriasis, and hookworm," *Lancet*, vol. 367, no. 9521, pp. 1521–1532, 2006.
- [15] E. C. Strunz, D. G. Addiss, M. E. Stocks, S. Ogden, J. Utzinger, M. C. Freeman, M. C, "Water, sanitation, hygiene, and soil-transmitted helminth infection: a systematic review and meta-analysis," *PLoS medicine*, vol. 11, no. 3, e1001620, 2014.
- [16] A. Echazú, D. Bonanno, M. Juarez, S. P. Cajal, V. Heredia, S. Caropresi, R. O. Cimino, N. Caro, P. A. Vargas, G. Paredes, A. J. Krolewiecki, "Effect of Poor Access to Water and Sanitation As Risk Factors for Soil-Transmitted Helminth Infection: Selectiveness by the Infective Route," *PLoS neglected tropical diseases*, vol. 9, no. 9, e0004111, 2015.
- [17] E. C. D. Andrade, I. C. G. Leite, M. D. T. Vieira, C. Abramo, S. H. C. Tibiriçá, P. L. Silva, "Prevalência de parasitoses intestinais em comunidade quilombola no Município de Bias Fortes, Estado de Minas Gerais, Brasil, 2008," *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, vol. 20, no. 3, pp. 337-344, 2011.

- [18] A. P. Dias, D. Calegar, F. A. Carvalho-Costa, M. Alencar, C. F. Ignacio, M. da Silva, A. de Moraes Neto, "Assessing the Influence of Water Management and Rainfall Seasonality on Water Quality and Intestinal Parasitism in Rural Northeastern Brazil," *Journal of tropical medicine*, 8159354, 2018.
- [19] M. T. Casavechia, M. V. Lonardoni, E. A. Venazzi, P. A. Campanerut-Sá, H. R. da Costa Benalia, M. F. Mattiello, P. V. Menechini, C. A. Dos Santos, J. J. Teixeira, "Prevalence and predictors associated with intestinal infections by protozoa and helminths in southern Brazil," *Parasitol Res*, vol. 115, no. 6, pp. 2321-2329, 2016.
- [20] C. P. Faria, G. M. Zanini, G. S. Dias, S. da Silva, M. B. de Freitas, R. Almendra, P. Santana, M. D. Sousa, " Geospatial distribution of intestinal parasitic infections in Rio de Janeiro (Brazil) and its association with social determinants." *PLoS neglected tropical diseases*, vol. 11, no. 3, e0005445, 2017.
- [21] J. O. Costa, J. A. Resende, F. F. Gil, J. Santos, M. A. Gomes, "Prevalence of *Entamoeba histolytica* and other enteral parasitic diseases in the metropolitan region of Belo Horizonte, Brazil. A cross-sectional study," *Sao Paulo medical journal*, vol. 136, no. 4, pp. 319–323, 2018.
- [22] C. V. Barbosa, M. M. Barreto, R. J. Andrade, F. Sodr e, C. M. d'Avila-Levy, J. M. Peralta, R. P. Igreja, H. W. de Macedo, H. Santos, " Intestinal parasite infections in a rural community of Rio de Janeiro (Brazil): Prevalence and genetic diversity of *Blastocystis* subtypes," *PloS one*, vol. 13, no. 3, e0193860, 2018.
- [23] D. A. Calegar, K. Monteiro, A. B. Gonçalves, M. N. Boia, L. H. Jaeger, B. C. Nunes, F. A. Carvalho-Costa, "Infections with *Giardia duodenalis* and *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* as Hidden and Prevalent Conditions in Periurban Communities in the State of Rio de Janeiro, Brazil," *Journal of tropical medicine*, 2020, 3134849, 2020.
- [24] K. Schnell, S. Collier, G. Derado, J. Yoder, J. W. Gargano, "Giardiasis in the United States - an epidemiologic and geospatial analysis of county-level drinking water and sanitation data, 1993-2010," *Journal of water and health*, vol. 14, no. 2, pp. 267–279, 2016.
- [25] Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. *Guia Prático para o Controle das Geohelmint ases*– Brasília: Ministério da Saúde, 2018, http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_pratico_controle_geohelmintias.pdf

Water management and intestinal parasitism in a periurban community in Rio de Janeiro state, Brazil

SUBMITTED

Phelipe Austriaco-Teixeira ¹, Maria Fantinatti¹, Luiz Antonio Pimentel Lopes-Oliveira¹, Monique Pinto Gonçalves¹, Denise dos Santos Leal¹, Isabella Stephanovich¹, Antonio José da Silva Gonçalves¹, Erika Veríssimo, Alda Da-Cruz^{1,2}, Filipe Anibal Carvalho Costa ³ [+ Show Affiliations](#)

Article Type

Research Article

Journal

Journal of Tropical Medicine

Academic Editor Unassigned

Submitted on 2021-03-20 (2 hours ago)

[> Abstract](#)[> Author Declaration](#)[> Files](#)  **2**

Apêndice 7. Tabela suplementar

Supplementary Table S1 – Cytokines and chemokines profile in plasma of children infected by *Giardia lamblia*

Cytokines Chemokines	Preschoolers				p
	<i>Giardia</i> Positive (MFI)		<i>Giardia</i> Negative (MFI)		
IFN- γ	10	[7.2 – 14]	10.0	[5.2 – 22.5]	ns
TNF	40	[30 – 50]	33.5	[27.5 – 54.5]	ns
IL-1 β	2.0	[0.0 – 6.5]	4.5	[1.3 – 10.7]	ns
IL-2	0.0	[0.0 – 18.5]	0.0	[0.0 – 0.0]	ns
IL-4	0.0	[0.0 – 0.0]	0.0	[0.0 – 0.0]	ns
IL-5	0.0	[0.0 – 11]	7.0	[3.6 – 11.7]	0.09
IL-6	11	[4.7 – 17]	12.7	[6.5 – 16.2]	ns
IL-7	8.0	[4.7 – 10.7]	6.0	[4.2 – 7.5]	ns
IL-8	98	[76.2 – 133]	241	[191 – 459]	0.003
IL-10	16	[8.0 – 25.5]	10.5	[9.0 – 13.5]	*0.08
IL-12p40	0.0	[0.0 – 6.0]	2.5	[0.2 – 4.0]	ns
IL-13	5.5	[0.0 – 7.2]	4.5	[3.2 – 5.7]	ns
IL-17	12	[5.5 – 23.5]	8.5	[5.3 – 11.5]	*0.05
MCP-1	517	[309 – 562]	336	[116 – 1,234]	ns
MIP-1 β	297	[218 – 732]	373	[240 – 835]	ns

IFN: interferon, IL: interleukin, TNF: tumor necrosis factor, MCP-1: monocyte chemoattractant protein-1, MIP-1 β : macrophage inflammatory protein-1 β . Data were expressed as Median Fluorescence Intensity (MFI). The results are presented as median [interquartile range 25-75%]. Statistical analysis was performed using non parametric Mann-Whitney test or *Student t-test.

9.ANEXOS

ANEXO 1



ESTADO DO RIO DE JANEIRO
PREFEITURA MUNICIPAL DE DUQUE DE CAXIAS
SECRETARIA MUNICIPAL DE SAÚDE
SUBSECRETARIA DE ATENÇÃO À SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ATENÇÃO PRIMÁRIA

Ofício nº 360/2016 – SMS/SAS/DAP/NDP

Duque de Caxias, 21 de Setembro de 2016.

Do: Departamento de Atenção Primária
Núcleo de Desenvolvimento Pessoal

A: Instituto Oswaldo Cruz e Faculdade de Ciências Médicas/UERJ

Assunto: Declaração (Faz)

Vimos por meio deste, declarar ciência e acordo que o projeto "Parasitoses intestinais: dinâmica de transmissão, resistência terapêutica e educação em saúde como medida de controle", em execução no Instituto Oswaldo Cruz/Fiocruz e Faculdade de Ciências Médicas/UERJ, sob coordenação da pesquisadora e professora Dra. Alda Maria Da Cruz e pela doutoranda Maria Fantinatti Fernandes da Silva, seja realizado na Unidade de Saúde da Família Imbariê.

Atenciosamente,

DIOGO GUIMARÃES MARINHO
Assessor de Desenvolvimento Pessoal – DAP
Mat. 25795-2

SANDRO RIBEIRO FERNANDES
Diretor do Departamento de Atenção Primária
Mat. 21736-6

Alameda James Franco, nº 03 - Jardim Primavera - Duque de Caxias - RJ / CEP: 25215-265.
Tel/Fax: (21) 2773-6333/6234.

ANEXO 2



FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ -
FIOCRUZ/IOC



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Parasitoses intestinais: dinâmica de transmissão, resistência terapêutica e educação em saúde como medida de controle.

Pesquisador: Alda Maria Da-Cruz

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 19705813.9.0000.5248

Instituição Proponente: Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ/IOC

Patrocinador Principal: Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ/IOC

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 099.703

Data da Relatoria: 10/06/2014

Apresentação do Projeto:

Os helmintos e protozoários intestinais de interesse médico têm grande importância epidemiológica em função da prevalência e morbidade elevadas. A Organização Mundial de Saúde estima que mais de dois bilhões de pessoas estejam parasitadas no mundo (WHO 2011), mas não há números oficiais referentes ao Brasil. Embora sejam muito associadas a áreas rurais, as parasitoses intestinais também constituem importante problema de saúde pública nos centros urbanos, geralmente em áreas com infra-estrutura sanitária precária. As parasitoses estão associadas à alta morbidade, por comprometimento do estado nutricional, afetando processos cognitivos, ou induzindo reações teciduais, como, por exemplo, obstrução intestinal e diarreia.

A falta de conhecimento sobre a real situação epidemiológica das parasitoses intestinais faz com que o agravo seja "desvalorado" quanto a sua importância em saúde pública. Aliado, recentes estudos de taxonomia molecular apontam para um perfil zoonótico de transmissão de *Giardia lamblia*, bem como emergência de cepas de resistentes ao nitroimidazol com possibilidade de recirculação destes parasitos em comunidades fechadas. Este projeto tem por objetivo estudar a dinâmica de transmissão de enteroparasitos com foco em *G. lamblia*.

Endereço: Av. Brasil 4036, Sala 705 (Expansão)
Bairro: Manguinhos **CEP:** 21.040-360
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 **Fax:** (21)2561-4815 **E-mail:** cepflocruz@ioc.fiocruz.br



Continuação do Parecer: 699.703

A proposta inclui:

- 1) quantificação da prevalência de parasitos intestinais;
- 2) Avaliação da resposta terapêutica e identificação de casos de resistência medicamentosa;
- 3) Caracterização genotípica de *G. lamblia* em ambientes de escola/creche e identificação dos genes pfor e ferredoxina associados à resistência ao nitroimidazóis;
- 4) Verificação de alterações na expressão do mRNA e das proteínas pfor e ferredoxina;
- 5) Implementação de medidas de educação em saúde nos vetores universidade-escola e vice versa.

Metodologia Proposta:

Serão estudados, sem distinção de sexo, crianças frequentadoras de creche e seus contactantes. Já foram contactadas creches de unidades do município do Rio de Janeiro, localizadas em comunidades (Salgueiro); e do município de Paty de Alferes (bairro do Grotão). Considerações éticas. Aqueles que aceitarem participar do estudo serão incluídos na pesquisa após assinatura de um termo de concordância formal (assinatura do responsável no caso dos menores de 18 anos), como assinatura de um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Os indivíduos serão avaliados quanto a aspectos clínicos e nutricionais. Obtenção das amostras e diagnóstico parasitológico de fezes.

As amostras serão acondicionadas em coletores com e sem adição de conservantes. Serão utilizados métodos para exame parasitológico de fezes que visam a detecção de ovos e de larvas de helmintos, cistos de protozoários e, quando indicado, trofozoítos. Tratamento dos casos positivos. Os pacientes serão tratados com drogas recomendadas pelo Ministério da Saúde e o controle de cura será realizado logo ao término do tratamento (24h) bem como após 7, 30 e 180 dias, para avaliação de reinfecções. Educação e saúde como controle. Serão construídos materiais didáticos visando propiciar aos estudantes e profissionais de saúde e educação, informação sobre os aspectos biológicos de parasitoses, sobretudo no que tange às características morfológicas, formas evolutivas, ação patogênica, impacto para a saúde e o desempenho escolar. Obtenção do DNA de *G. lamblia* e sequenciamento dos genes associados à resistência. As amostras fecais positivas para giárdia terão seu DNA extraído pelo uso do QIAamp DNA mini kit (Qiagen), segundo as instruções do fabricante e seu RNA extraído pelo uso do Trizol.

O DNA será submetido à reação em cadeia da polimerase (PCR) e o produto amplificado purificado e submetido ao sequenciamento para os genes associados à resistência (piruvato-

Endereço: Av. Brasil 4036, Sala 705 (Expansão)
Bairro: Manguinhos CEP: 21.040-360
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 Fax: (21)2561-4815 E-mail: cepflocruz@ioc.fiocruz.br



Continuação do Parecer: 699.703

ferredoxinaoxidoredutase e ferredoxina), utilizando um gene conservado como controle (beta-giardina). A partir dos eletroferogramas obtidos serão desenhadas árvores filogenéticas a fim de traçar o perfil epidemiológico das populações e dendogramas a fim de analisar e comparar as alterações nucleotídicas e aminoácídicas antes e após o tratamento. Os RNAs extraídos serão submetidos à técnica de Northern blotting e ao SDS-page a fim de verificar a expressão dos genes e das proteínas, relacionados a piruvato-ferredoxina-oxidoredutase e ferredoxina. Se observada alterações, o RNA será submetido a RT-PCR e o produto submetido a PCR em tempo real, para os mesmos genes, a fim de quantificar a expressão do RNA mensageiro de cada gene. A dosagem de proteínas será feita pela técnica de ELISA.

Critério de Inclusão:

Crianças frequentadoras de creche/escola comunitária ou escolas. Adultos funcionários da creche. Contactantes das crianças: familiares, responsáveis, animais domésticos.

Assim, proposta engloba dois braços distintos, abrangendo pesquisa acadêmica e pesquisa ação, onde ambas pretendem contribuir para reduzir a transmissão e contribuir para a melhora das estratégias de controle de parasitos intestinais.

Objetivo da Pesquisa:

Hipótese:

Qual a frequência de parasitoses intestinais em crianças de populações fechadas do Rio de Janeiro? Qual a prevalência e o perfil epidemiológico das regiões estudadas, em humanos, animais e no ambiente? Qual o genotipo de *G. lamblia* circulante em cada população? Existe resistência parasitária ao tratamento com secnidazol nas populações estudadas? Existe algum genotipo de *G. lamblia* associado à resistência parasitária a drogas? Quais são as alterações (de expressão de mRNA, de expressão de proteína, de aminoácido e de nucleotídeos) encontradas nos casos de persistência da infecção por *G. lamblia*? Existe semelhança entre as alterações encontradas em amostras clínicas, antes e após o tratamento, e as encontradas em cepas axênicas, controle e sob pressão de secnidazol? Existem cepas resistentes já circulantes nestas populações?

Objetivo Primário:

Este projeto tem por objetivo estudar a dinâmica de transmissão de parasitos intestinais, bem como avaliação do papel da educação em saúde e da resistência terapêutica nas medidas de

Endereço: Av. Brasil 4036, Sala 705 (Expansão)
Bairro: Manguinhos CEP: 21.040-360
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 Fax: (21)2561-4815 E-mail: cepflocruz@ioc.fiocruz.br



Continuação do Parecer: 699.703

controle. A proposta engloba dois braços distintos, abrangendo pesquisa acadêmica e pesquisa ação, onde ambas pretendem contribuir para reduzir a transmissão e para a melhoria das estratégias de controle de parasitos intestinais.

Objetivo Secundário:

- 1) Quantificação da prevalência de helmintos e protozoários intestinais;
- 2) Avaliação da resposta terapêutica e identificação de casos de resistência medicamentosa;
- 3) Caracterização genotípica de *G. lamblia* em ambientes de escola/creche e identificação dos genes pfor e ferredoxina associados à resistência aos nitroimidazóis;
- 4) Verificação de alterações na expressão do mRNA e das proteínas pfor e ferredoxina;
- 5) Implementação de medidas de educação em saúde nos vetores universidade-escola e vice versa.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Possíveis efeitos colaterais referentes ao uso de drogas indicadas para o tratamento das infecções por enteroparasitos.

Benefícios:

- 1) Diagnóstico de exame parasitológico de fezes dos voluntários;
- 2) Tratamento para enteroparasitoses dos voluntários positivos no EPF;
- 3) Diagnóstico do controle de cura dos voluntários tratados;
- 4) Difusão de conhecimento em educação e saúde (medidas de prevenção e controle) para voluntários, profissionais da área da saúde e educação.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto está suficientemente claro em seus propósitos e devidamente fundamentado. É do Grupo III, e, portanto, não necessita de submissão à CONEP antes de ser iniciado. Nessa segunda versão do projeto, a pesquisadora responsável incluiu os documentos solicitados no primeiro parecer.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados a folha de rosto, projeto de pesquisa, cronograma atualizado, orçamento da

Endereço: Av. Brasil 4036, Sala 705 (Expansão)
Bairro: Manguinhos CEP: 21.040-360
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 Fax: (21)2561-4815 E-mail: cepflocruz@ioc.fiocruz.br



FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ -
FIOCRUZ/IOC



Continuação do Parecer: 699.703

pesquisa, termo de consentimento livre e esclarecido.

Recomendações:

Apresentar relatórios parciais (anuais) e relatório final do projeto de pesquisa é responsabilidade indelegável do pesquisador principal.

Qualquer modificação ou emenda ao projeto de pesquisa em pauta deve ser submetida à apreciação do CEP Fiocruz/IOC.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Oswaldo Cruz (CEP FIOCRUZ/IOC), em sua 194ª Reunião Ordinária, realizada em 10.06.2014, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 468/12, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

O sujeito de pesquisa ou seu representante, quando for o caso, deverá rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido-TCLE apondo sua assinatura na última página do referido Termo.

O pesquisador responsável deverá da mesma forma, rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido- TCLE apondo sua assinatura na última página do referido Termo.

Endereço: Av. Brasil 4036, Sala 705 (Expansão)
Bairro: Manguinhos CEP: 21.040-360
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 Fax: (21)2561-4815 E-mail: cepfiocruz@ioc.fiocruz.br



FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ -
FIOCRUZ/IOC



Continuação do Parecer: 699.703

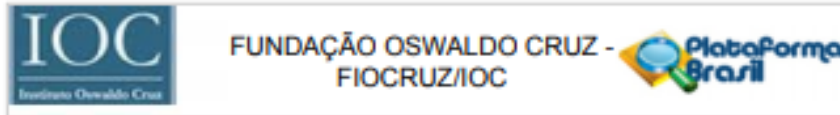
RIO DE JANEIRO, 26 de Junho de 2014

Assinado por:
José Henrique da Silva Pilotto
(Coordenador)

Endereço: Av. Brasil 4036, Sala 705 (Expansão)
Bairro: Mangulhos CEP: 21.040-360
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 Fax: (21)2561-4815 E-mail: cepfocruz@ioc.fiocruz.br

Página 06 de 06

ANEXO 3



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Parasitoses intestinais: dinâmica de transmissão, resistência terapêutica e educação em saúde como medida de controle

Pesquisador: Aida Maria Da-Cruz

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 90779017.7.0000.5248

Instituição Proponente: FUNDACAO OSWALDO CRUZ

Patrocinador Principal: FUNDACAO OSWALDO CRUZ

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.827.839

Apresentação do Projeto:

Trata-se da resposta da Pesquisadora principal ao parecer nº 2 709 532, emitido em 13/06/2018, ao projeto em tela.

O estudo é constituído de um projeto de tese em Medicina Tropical do IOC de Phelipe Austriaco Teixeira, do projeto de pós-doutoramento de Maria Fantinati e do projeto de tese em Biologia Parasitária de Luiz Antonio Pimentel Lopes de Oliveira todos orientados pela pesquisadora principal. Segundo a pesquisadora, "é proposto o estudo de 1580 indivíduos assistidos por uma unidade básica de saúde de Imbariê, município de Duque de Caxias. Aqueles que aceitarem participar do estudo serão incluídos na pesquisa após assinatura do TCLE. Os menores de 18 anos deverão assinar o TALE, além de terem autorização dos responsáveis para participar do estudo, por meio de TCLE. Os participantes, sem distinção de sexo, serão avaliados quanto a aspectos clínicos e nutricionais. As amostras de fezes serão acondicionadas em coletores com e sem adição de conservantes. Serão utilizados métodos para exame parasitológico de fezes que visam a detecção de ovos e de larvas de helmintos, cistos de protozoários e, quando indicado, trofozoítos. Quando indicado será utilizado o método de Graham para pesquisa de "Enterobius vermiculares". Os casos positivos serão tratados com drogas recomendadas pelo Ministério da Saúde e o controle de cura será realizado logo ao término do tratamento (24h), bem como nos tempos de 7, 30 e 180 dias, para avaliação de reinfeções. Para ações de educação em saúde como controle serão construídos materiais didáticos visando propiciar aos estudantes e profissionais de saúde e

Endereço: Av. Brasil 4636, Sala 705 (Campus Expansão)
Bairro: Manguinhos **CEP:** 21.040-360
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 **Fax:** (21)2561-4815 **E-mail:** cepfiocruz@ioc.fiocruz.br

Página 01 de 08



FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ -
FIOCRUZ/IOC



Continuação do Projeto: 2.627.826

educação, informação sobre os aspectos biológicos de parasitoses, sobretudo no que tange a características morfológicas, formas evolutivas, ação patogênica, impacto para a saúde e desempenho escolar. Para obtenção do DNA de "G. lamblia" e sequenciamento dos genes associados à resistência, as amostras fecais positivas para giárdia terão seu DNA extraído pelo uso do QIAamp DNA mini kit (Qiagen), segundo as instruções do fabricante e seu RNA extraído pelo uso do Trizol. O DNA será submetido à reação em cadeia da polimerase (PCR) e o produto amplificado purificado e submetido ao sequenciamento para os genes conservados que codificam as proteínas betagiardina e glutamato desidrogenase e também para genes associados à resistência (piruvato-ferredoxina-oxidoreductase e ferredoxina). A partir dos eletroferogramas obtidos serão desenhadas árvores filogenéticas a fim de traçar o perfil epidemiológico das populações e dendogramas a fim de analisar e comparar as alterações nucleotídicas e aminoácídicas antes e após o tratamento. Os RNAs extraídos serão submetidos à técnica de Northern blotting e ao SDS-page a fim de verificar a expressão dos genes e das proteínas, relacionados a piruvatoferredoxina-oxidoreductase e ferredoxina. Se observada alterações, o RNA será submetido a RT-PCR e o produto submetido a PCR em tempo real, para os mesmos genes, a fim de quantificar a expressão do RNA mensageiro de cada gene. A dosagem de proteínas será feita pela técnica de ELISA. Será realizada a identificação de fatores de risco e diagnóstico ambiental (água, solo e fezes de animais erantes). As amostras clínicas serão armazenadas em formol por um período de cinco anos no Laboratório Interdisciplinar de Pesquisas Médicas. O DNA e o RNA também ficará sob guarda do Laboratório Interdisciplinar de Pesquisas Médicas por um período de cinco anos."

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Estudar a dinâmica de transmissão de parasitos intestinais, bem como avaliar o papel da educação em saúde nas medidas de controle. A proposta engloba dois braços distintos, abrangendo pesquisa acadêmica e pesquisa ação, onde ambas pretendem contribuir para reduzir a transmissão e para a melhoria das estratégias de controle de parasitos intestinais.

Objetivos Secundários :

Endereço: Av. Brasil-4036, Sala 705 (Campus Expansão)
Bairro: Marquinhos **CEP:** 21.040-360
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 **Fax:** (21)2561-4815 **E-mail:** capfioacruz@ioc.fiocruz.br



FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ -
FIOCRUZ/IOC



Continuação do Protocolo: 2.627.826

- 1-Realizar o diagnóstico de situação quanto à prevalência de helmintos e protozoários intestinais e avaliar o impacto do tratamento, conjuntamente às medidas de educação em saúde, no controle de parasitoses.
- 2- Realizar análises filogenéticas e determinar o perfil genotípico de *G. lamblia* nos participantes do estudo e seus contactantes (humanos e animais domésticos), bem como associar os genótipos aos fatores de risco, estabelecendo a dinâmica de transmissão.
- 3-Determinar a ocorrência de enteroparasitos a partir de amostras ambientais e correlacionar com análises moleculares.
- 4-Comparar o nível de expressão do mRNA dos genes pfor e fdox, em cepas axênicas de *G. lamblia* sensíveis e resistentes ao secnidazol e em amostras clínicas antes e após o tratamento.
- 5-Determinar as alterações nas sequências nucleotídicas e aminoácídicas provocadas pela exposição ao secnidazol em cepas de *G. lamblia* axênicas e circulantes.
- 6-Correlacionar as alterações no genoma e no transcriptoma com os respectivos genótipos encontrados nas amostras clínicas.
- 7-Implementar medidas de educação em saúde nos vetores universidade-escola e vice versa.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Segundo a pesquisadora principal: "Serão prescritos e fornecidos medicamentos preconizados pelo Ministério da Saúde para o tratamento das infecções por enteroparasitos, entretanto não é possível descartar efeitos colaterais referentes ao uso destas drogas."

Benefícios:

Segundo a pesquisadora principal a participante terá os seguintes benefícios: "1)Diagnóstico de exame parasitológico de fezes dos voluntários; 2)Tratamento para enteroparasitoses dos voluntários positivos no EPF; 3) Diagnóstico do controle de cura dos voluntários tratados; 4) Difusão de conhecimento em educação e saúde (medidas de prevenção e controle)para voluntários, profissionais da área da saúde e educação."

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

As pendências foram respondidas pela pesquisadora principal conforme solicitado.

O projeto está bem fundamentado, a metodologia está adequada aos objetivos e a equipe tem expertise para desenvolver a pesquisa.

Endereço: Av. Brasil 4036, Sala 705 (Campus Expansão)
Bairro: Manguinhos CEP: 21.040-360
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 Fax: (21)2561-4815 E-mail: cepfio Cruz@ioc.fiocruz.br



FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ -
FIOCRUZ/IOC



Continuação do Parecer: 2.827.828

Segundo a pesquisadora, "O Ambiente influencia a dinâmica de transmissão das parasitoses intestinais. Há associação entre o perfil do genótipo e características associadas à resistência de isolados de *Giardia lamblia*. As alterações genômicas encontradas em vias metabólicas envolvidas na ativação do metronidazol in vitro podem ser identificadas em cepas resistentes em pacientes a partir de suas amostras clínicas de fezes. A educação em saúde contribui para difundir hábitos de prevenção às parasitoses intestinais."

Segundo a pesquisadora, na localidade, a equipe entrará em contato com o posto de saúde e Programa Saúde da Família da região a fim de obter dados nutricionais, história clínica e epidemiológica dos pacientes nos prontuários.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Nesta versão foram apresentados e avaliados os seguintes documentos:

- 1-Carta Resposta em papel timbrado, datada de 13 de julho de 2018, assinada e carimbada pela pesquisadora principal;
- 2-PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1018834;
- 3- Regulamento de Biorepositório;
- 4- TCLE Res.CNS 466/2012 para adultos e contactantes reviso e alterações sinalizadas;
- 5- TCLE para responsáveis pelas crianças e adolescentes reviso e alterações sinalizadas;
- 6-TALE para coleta de fezes de criança e adolescente (maiores de 12 anos e menores de 18 anos) reviso e alterações sinalizadas e
- 7-Questionário para adulto a ser respondido no momento da entrega da amostra.

Recomendações:

Excluir o termo "Eticidade" no TALE. A criança terá dificuldade em saber o significado da palavra.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O projeto está em conformidade com a resolução 466/12 do CNS após atender as seguintes pendências:

- 1- Esclarecer o que será feito para minimizar o risco da pesquisa (tratamento com drogas que poderão ocasionar, eventualmente, efeitos colaterais);

Resposta da pesquisadora:

Endereço: Av. Brasil 4636, Sala 705 (Campus Expansão)
Bairro: Marquinhos CEP: 21.040-360
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 Fax: (21)2561-4815 E-mail: cep@ioc.fiocruz.br



FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ -
FIOCRUZ/IOC



Continuação do Parecer: 2.837.838

"O tratamento é mandatório para os pacientes que estiverem infectados por parasitos patogênicos e será realizado com os medicamentos recomendados pelo Ministério da Saúde e não é objeto de projeto de pesquisa em análise, posto que será prescrito pela instituição responsável pela o atendimento de atenção primária do município. Os indivíduos que tiverem algum sintoma, possivelmente relacionado ao uso do medicamento, serão orientados a procurar a equipe de Estratégia de Saúde da Família e interromper imediatamente o uso do medicamento. Além disso, o participante do estudo poderá entrar em contato com a equipe de pesquisa a qualquer hora por meio do telefone (21)98399-9889."

Foi incluído no TCLE.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

2- Alterar a data do questionário (de 2017 para 2018);

Resposta da pesquisadora:

"Realizada alteração e anexado o documento novamente."

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

3- Incluir o Regulamento do Biorepositório do Laboratório Interdisciplinar de Pesquisas Médicas (local onde as amostras ficarão armazenadas por cinco anos);

Resposta da pesquisadora:

"Realizado anexo do respectivo regulamento."

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

4- Com relação ao questionário, quem e aonde será aplicado? Será por meio de entrevista? Como serão preservados o sigilo e a confiabilidade dos dados coletados?

Resposta da pesquisadora:

"O questionário será aplicado no momento da visita domiciliar ou da consulta na Unidade de Saúde da Família, por um dos pesquisadores que compõem a equipe e acompanhado por um funcionário da respectiva unidade de saúde (agente comunitária de saúde, técnico de enfermagem, enfermeiro ou médico). O sigilo será garantido por meio da codificação dos questionários. O laboratório irá atribuir a cada participante da pesquisa um código alfanumérico para identificação dos questionários. O acesso principal a esse código, vinculado à identidade do participante e à pesquisa, assim como qualquer informação pessoal como nome, endereço, data de nascimento e outros dados que identifiquem o sujeito. Os documentos serão guardados em local seguro.

Endereço: Av. Brasil 4638, Sala 705 (Campus Expansão)
Bairro: Manguinhos CEP: 21.040-360
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 Fax: (21)2561-4815 E-mail: cap@fiocruz@ioc.fiocruz.br



FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ -
FIOCRUZ/IOC



Continuação do Parecer: 2.627.626

fechado à chave nos centros de pesquisa. Essa identificação pessoal só pode ser acessada pelo pesquisador principal e pela equipe designada. Não poderá ser enviada a ninguém fora do laboratório ou ser divulgada a ninguém dentro do laboratório que não tenha permissão de acessar tal informação. "

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

5- TCLE do adulto e contactantes rever redação, em alguns:

a)Tirechos o tratamento é feito na primeira pessoa em outros está na terceira pessoa.

Por exemplo:

" Sua participação nesta pesquisa não é obrigatória e você pode desistir a qualquer momento, retirando seu consentimento, sem qualquer prejuízo ao meu tratamento." e "As suas informações serão armazenadas e posteriormente destruídas, sem serem divulgadas. Os resultados da pesquisa serão divulgados na forma de comunicação científica, mas não haverá minha identificação e você terá garantia do sigilo e confidencialidade dos dados. "

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

b)Rever alguns termos como " dinâmica de transmissão", "resistência terapêutica", "má absorção de nutrientes" e "informações demográficas", usar termos mais acessível ao participante.

Resposta da pesquisadora:

"a) Realizada alterações na redação (sinalizadas) e anexado novamente o TCLE.

b) Realizada alterações na redação (sinalizadas) e anexado novamente o TCLE. Os termos foram substituídos:

"dinâmica de transmissão" por "formas de contaminação";

"resistência terapêutica" por "resistência ao medicamento";

"má absorção de nutrientes" refinado do texto;

"informações demográficas" por "informações sobre a família e moradia".

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

6- TCLE dos responsáveis, rever redação, usar termos em linguagem mais coloquiais, evitar termos como "dados antropométricos"

Resposta da pesquisadora:

Endereço: Av. Brasil 4036, Sala 705 (Campus Expansão)
Bairro: Manguinhos CEP: 21.040-360
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 Fax: (21)2561-4815 E-mail: cepfioacruz@ioc.fiocruz.br



FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ -
FIOCRUZ/IOC



Continuação do Parecer: 2.827.828

"Realizada alterações na redação (sinalizadas) e anexado novamente o TCLE dos responsáveis. Termo "dados antropométricos" substituído por "medidas de peso e altura". "

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

7- Esclarecer os objetivos do projeto. No projeto detalhado há mais dois objetivos e estão mais bem redigidos do que nas informações básicas do projeto.

Resposta da pesquisadora:

"Realizada alterações no preenchimento das informações básicas do projeto de acordo com os objetivos descritos no projeto detalhado. "

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

Considerações Finais a critério do CEP:

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Oswaldo Cruz (CEP Fiocruz/IOC), de acordo com as atribuições definidas na Res. CNS 466/12 e na Norma Operacional nº 001 de 2013 do CNS, em sua 241ª Reunião Ordinária, manifesta-se pela aprovação do projeto CAAE: 9077901 7.7.0000.5248.

Cabe ressaltar que a responsabilidade da pesquisadora é indelegável e indeclinável e compreende os aspectos éticos e legais.

Apresentar relatórios parciais (anuais) e relatório final do projeto de pesquisa é responsabilidade indelegável da pesquisadora principal.

Qualquer modificação ou emenda ao projeto de pesquisa em pauta deve ser submetida à apreciação do CEP Fiocruz/IOC.

O participante de pesquisa ou seu representante, quando for o caso, deverá rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido-TCLE apondo sua assinatura na última

Endereço: Av. Brasil 4636, Sala 705 (Campus Expansão)
Bairro: Manguinhos CEP: 21.040-360
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 Fax: (21)2561-4815 E-mail: cepfiocruz@ioc.fiocruz.br



FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ -
FIOCRUZ/IOC



Continuação do Parecer: 2.627.626

página do referido Termo.

A pesquisadora responsável deverá da mesma forma, rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido- TCLE apondo sua assinatura na última página do referido Termo.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMACOES_BASICAS_DO_PROJETO_1018834.pdf	13/07/2018 17:19:42		Aceito
Outros	CARTA_RESPOSTA.pdf	13/07/2018 17:17:53	Phelipe Austríaco Teixeira	Aceito
Outros	Regulamento_Biorepositorio_LIPMED.pdf	13/07/2018 17:04:07	Phelipe Austríaco Teixeira	Aceito
Outros	QUESTIONARIO.pdf	13/07/2018 17:00:54	Phelipe Austríaco Teixeira	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Responsavel_crianCa_2018.pdf	13/07/2018 17:00:04	Phelipe Austríaco Teixeira	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMO_DE_ASSENTIMENTO_PARA_COLETA_DE_FEZES_CRIANCAS.pdf	13/07/2018 16:58:57	Phelipe Austríaco Teixeira	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_adulto_2018.pdf	13/07/2018 16:58:46	Phelipe Austríaco Teixeira	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TALE.pdf	04/06/2018 10:45:30	Phelipe Austríaco Teixeira	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoCEP.pdf	04/06/2018 10:38:32	Phelipe Austríaco Teixeira	Aceito
Folha de Rosto	FOLHA_DE_ROSTO.pdf	04/06/2018 10:37:08	Phelipe Austríaco Teixeira	Aceito
Outros	Autorizacao_Secretaria_Municipal_de_Saude.pdf	11/12/2017 09:38:24	Phelipe Austríaco Teixeira	Aceito

Endereço: Av. Brasil 4036, Sala 705 (Campus Expansão)
Bairro: Manguinhos CEP: 21.040-360
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-0011 Fax: (21)2561-4815 E-mail: capfioconz@ioc.fiocruz.br



FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ -
FIOCRUZ/IOC



Contratação/Processo: 24714/18

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RIO DE JANEIRO, 17 de Agosto de 2018

Assinado por:

Maria Regina Reis Amadorino
(Coordenador)

Endereço: Av. Brasil 4746, Sala 701 (Campus Expandido)
Bairro: Marquês CEP: 21.040-200
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21) 2562-9211 Fax: (21) 2561-4818 E-mail: captaoia@ioc.fiocruz.br